

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**E.A.P. DE ODONTOLOGÍA**

**Acción antimicrobiana del *Anacardium occidentale* sobre  
*Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*. Estudio in  
vitro**

**TESIS**

para obtener el título de Cirujano Dentista

**AUTOR**

**Janina Tello Vivanco**

**Lima-Perú**

**2011**

### **Dedicatoria**

A ti, James, porque además de hermano ideal,  
fuieste amigo y compañero.

## **Agradecimientos**

A Dios por brindarme siempre un nuevo amanecer cada día y por permitirme llegar hasta aquí.

A mis padres, que en todo momento me apoyaron y sé que lo seguirán haciendo, y porque gracias a ellos soy la persona que soy.

A mis hermanos Jenifer, Jack y James porque gracias a ellos nunca estuve sola y nunca lo estaré.

A la Mg. Blga. Hilda Moromi Nakata, por su infinita dedicación y empeño en la elaboración de este trabajo.

A Oscar, por todo el amor y comprensión que siempre me brinda y a mis amigos que estuvieron conmigo cuando más los necesité.

A la facultad de Odontología y a todos los docentes, por brindarme sus conocimientos y dedicación.

A mi querida Universidad Nacional Mayor de San Marcos por cobijarme en sus aulas todo este tiempo.

A todos aquellos de alguna forma influenciaron en la realización de este trabajo.

## Índice

<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>6</b>
<b>II. MARCO TEÓRICO</b>	
<b>2.1. ANTECEDENTES.</b>	<b>7</b>
<b>2.2. BASES TEÓRICAS</b>	
<b>2.2.1. Los Hongos</b>	<b>19</b>
<b>2.2.1.1. Género <i>Candida</i></b>	<b>34</b>
<b>2.2.1.2. Candidiasis oral</b>	<b>49</b>
<b>2.2.2. Género <i>Staphylococcus</i></b>	<b>59</b>
<b>2.2.3. Medicina natural</b>	<b>70</b>
<b>2.2.3.1. Fitoterapia</b>	<b>71</b>
<b>2.2.3.2. <i>Anacardium occidentale</i></b>	<b>75</b>
<b>2.3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.</b>	<b>84</b>
<b>2.4. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>85</b>
<b>2.5. OBJETIVOS</b>	<b>86</b>
<b>2.6. HIPÓTESIS</b>	<b>86</b>
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
<b>3.1. TIPO DE ESTUDIO</b>	<b>88</b>
<b>3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA</b>	<b>88</b>

<b>3.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES</b>	<b>88</b>
<b>3.4. MATERIALES Y MÉTODO</b>	
<b>3.4.1. Procedimientos y técnica.</b>	
<b>3.4.1.1. Obtención del aceite de la cáscara de la nuez</b>	
<b>del <i>Anacardium occidentale</i>.</b>	<b>90</b>
<b>3.4.1.2. Toma de muestra, crecimiento y reconstitución</b>	
<b>de cepas de <i>Candida albicans</i>.</b>	<b>90</b>
<b>3.4.1.3. Prueba de sensibilidad antifúngica.</b>	<b>91</b>
<b>3.4.2. Recolección de datos.</b>	<b>93</b>
<b>IV. RESULTADOS</b>	<b>94</b>
<b>V. DISCUSIÓN</b>	<b>95</b>
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	<b>96</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES</b>	<b>97</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>98</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b>	<b>99</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>105</b>

# I. INTRODUCCIÓN

*Candida albicans* y *Staphylococcus aureus* han incrementado su frecuencia y su importancia clínica, a causa del aumento del uso de drogas inmunosupresoras potentes en trasplantes, en terapia anticancerosa, por la aparición de infecciones virales que causan inmunodeficiencia (VIH) y porque los medicamentos disponibles suelen producir recurrencia o resistencia, además, presentan importante toxicidad. Por ello, se busca continuamente medicinas más potentes y seguras.

Es ampliamente conocido que el Perú es uno de los países más megadiversos del mundo (está entre los 12 primeros). Nuestro país, en sus diferentes nichos ecológicos, ofrece una amplia gama de flora y fauna, y además posee una cultura muy antigua con respecto al uso de las plantas medicinales.

La Amazonía peruana es una de las zonas del planeta con mayor diversidad vegetal, conviven en la zona el 8% del total de especies vegetales, de las cuales menos del 1% han sido estudiadas desde el punto de vista fitoquímico o farmacológico, por lo tanto su estudio podría conducir al descubrimiento de un gran número de nuevas moléculas bioactivas con posible aplicación terapéutica.

El avance de la Fitoterapia como disciplina médica es cada vez mayor, esto se evidencia en que las plantas medicinales representan casi el 25% del total de las prescripciones medicas en países industrializados; en los países en desarrollo la participación de las plantas medicinales en el arsenal terapéutico alcanza el 80%.

Una de estas plantas es el *Anacardium occidentale*, que ha presentado en estudios, acción antimicrobiana sobre las afecciones bucales.

# **Acción antimicrobiana del *Anacardium occidentale* sobre *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*. Estudio *in vitro***

## **II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. ANTECEDENTES.**

**Lima, Pastore y Lima** (2000) estudiaron la actividad antimicrobiana de los ácidos anacárdicos del aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale* sobre los organismos de la cavidad bucal como el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Staphylococcus aureus* ATCC 12598, *Candida albicans* ATCC 10231 y *Candida utilis*. Los ácidos anacárdicos obtenidos de los extractos etílicos, presentaron actividad antibacteriana contra los microorganismos citados, pero una mayor actividad inhibitoria ocurrió sobre la bacteria gran positiva *Streptococcus mutans*, considerada predominante en la caries dental. En cuanto a la suceptibilidad de la *Candida albicans* y *Candida utilis* hacia los ácidos anacárdicos, fue determinada por el método de dilución en tubos de ensayo. Después de la incubación respectiva, las fotografías demostraron que el medio de cultivo continuó turbio, por tanto, se observó una débil inhibición en el crecimiento de las levaduras.<sup>1</sup>

**Mier y Rivas** (2001) evaluaron la actividad antimicrobiana de los extractos de *Eysenhardtia polystachya* y *E. texana*, contra microorganismos de importancia médica. Se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos por medio del método de difusión en placa, se incubaron por 18-24 hrs a 37°C; después se midió el halo de inhibición. Se realizó cromatografía en capa fina para la separación de los compuestos y se utilizó el método bioautográfico para ver si alguna fracción

tenía actividad biológica dando resultados negativos. También se halló la concentración mínima inhibitoria (CMI), utilizando como control gentamicina y se realizaron diferentes pruebas químicas para la identificación parcial de los compuestos responsables de la actividad antimicrobiana. El extracto de *E. polystachya* presentó actividad contra *E. aerogenes*, *P. vulgaris*, *S. aureus* y *S. epidermidis*. El extracto de *E. texana* presentó efecto inhibitorio sobre *S. epidermidis*. Ninguna de los extractos de las plantas presentó actividad inhibitoria contra *Candida albicans*.<sup>2</sup>

**Cordero Llanuch, Camacho, Rodríguez y Gala**, (2003) investigaron, dentro del conjunto de plantas que usa la población, alguna que tuviera actividad antimicótica y que fuera susceptible de poder ser investigada en condiciones de laboratorio. Como resultado del estudio, se pudo constatar que la Güira cimarrona (*Crescentia cujete*, L.), se utiliza popularmente contra las micosis superficiales. A partir de este dato, se diseñaron experimentos en medio Sabouraud y Caldo de Corazón, en tubos a los que se les agregaron, en concentraciones crecientes de 1 a 5 ml de extracto crudo de la planta, hasta completar una mezcla de 10 ml en unión con el medio de cultivo. Posteriormente, en cada una de estas muestras se sembraron colonias de *Cándida albicans* con el objetivo de comprobar la influencia del extracto sobre el crecimiento de las colonias, así como para determinar la proporción mínima del extracto con actividad anticandidiásica, observándose que, a partir de 1,5 ml de extracto, se detiene el crecimiento de las colonias, siendo este efecto directamente proporcional a la cantidad de mililitros que se empleen.<sup>3</sup>



**Huamaní y Ruiz** (2005) investigaron la actividad antifúngica in vitro de doce extractos etanólicos correspondientes a diez plantas medicinales peruanas; *Annona cherimolia* Mill.(hojas), *Annona muricata* L.(corteza y hojas), *Bidens pilosa* L.(partes aéreas), *Hypericum laricifolium* L.(partes aéreas), *Juglans neotropica* Diels(corteza), *Piper spp.* (hojas), *Plantago major* L.(hojas), *Psidium guajava* L.(hojas), *Schinus molle* L.(corteza y hojas) y *Spartium junceum* L. (planta entera). Las especies fueron recolectadas en el departamento de Amazonas, excepto *Schinus molle* L. (Apurímac) y *Annona muricata* L. (Lima). La actividad antifúngica se evaluó mediante los métodos de difusión en agar y dilución en agar para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI). Los microorganismos de prueba utilizados fueron las levaduras *Candida albicans* ATCC 10231 y *Candida albicans* cepa clínica, así como, el hongo filamentoso *Aspergillus niger* ATCC 16404; las cepas fueron proporcionadas por la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. De doce extractos investigados, seis presentaron actividad antifúngica consistente con un diámetro de halos de inhibición  $\geq 18\text{mm}$  (Prueba de Difusión en agar) frente a *Candida albicans* ATCC 10231. Ningún extracto mostró actividad consistente frente a la cepa clínica de *Candida albicans* y *Aspergillus niger* ATCC 16404. La CMI de los extractos que presentaron actividad consistente frente a *Candida albicans* ATCC 10231, fue de 250  $\mu\text{g/mL}$  para *Hypericum laricifolium* L., *Juglans neotropica* Diels, *Psidium guajava* L. y *Schinus molle* L. (un extracto de corteza y uno de hojas) y de 500  $\mu\text{g/mL}$  para *Piper spp.* No se determinó la CMI de los extractos (*Juglans neotropica* Diels y *Psidium guajava* L.) que presentaron halos frente al *Aspergillus niger* ATCC 16404 por considerarlos sin actividad

significante (<18mm.). Los antifúngicos Nistatina y Fluconazol fueron incluidos en el estudio como controles positivos. <sup>4</sup>

**Ferreira y Viera** (2005) evaluaron la actividad antifúngica, *in vitro*, del extracto de la cáscara del *Anacardium occidentale* sobre las levaduras *Candida albicans*, *C. stellatoidea*, *C. krusei* y *C. tropicalis* en estudio comparativo con gluconato de clorexidina al 0,12 %. Los ensayos fueron realizados por la técnica de difusión en agar para la determinación de concentración inhibitoria mínima (CIM). El extracto de la cáscara presentó actividad potencial antifúngica sobre *C. tropicalis* y *C. stellatoidea*, mientras que el gluconato de clorexidina presentó actividad antifúngica para todas las levaduras. Los valores de las CMIs para el extracto de anacardo fueron 1:8 con halos de inhibición que varían de 12 a 18 mm. y para la clorexidina de 1:16 con halos de inhibición que varían de 11 a 22 mm. <sup>5</sup>

**Alvarez e Isaza** (2005) midieron la actividad antimicótica *in vitro* de los extractos etanólicos de *Phenax rugosus* (esparietaria) y *Baccharis trinervis* (chilca) frente a los hongos *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentragrophytes* y *Candida albicans*. La actividad antimicótica de los extractos se determinó por el método de dilución con suspensión de esporas. La interpretación de los resultados para *Candida* se realizó a los tres días y para los dermatofitos a los siete días. Se compararon los halos de inhibición del control positivo con el halo de inhibición de los extractos; determinándose así, si el hongo era sensible o resistente. Todos los ensayos se realizaron por duplicado. Los extractos etanólicos de ambas plantas presentaron actividad antimicótica frente a los dermatofitos a dosis de 150mg/mL;

*Candida albicans* no fue sensible a ninguno de estos extractos en concentraciones que variaron desde 150 hasta 1000 mg/mL. <sup>6</sup>

**Estrada, Gamboa, Chaves y Arias.** (2005) evaluaron la carga microbiológica de 25 muestras de miel de abeja por medio de una serie de recuentos. Las muestras se inocularon en tubos Chopped Meat y posteriormente se sembraron en agar Yema de huevo para determinar la presencia de *Clostridium botulinum*. Para la evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel, se realizó un método en difusión en agar Muller-Hinton, donde se probaron diferentes diluciones de la miel contra *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (UCR 2902), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19116) y *Aspergillus niger*. El 92 % de las muestras mostraron algún tipo de inhibición sobre las bacterias evaluadas, un 24 % logró inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, hasta en una concentración de 25 % .No se observó la inhibición de *Aspergillus niger* por ninguna de las muestras analizadas. <sup>7</sup>

**Baena, Moreno, Franco y col.** (2005) recolectaron la saliva de 105 pacientes (62 mujeres y 43 hombres) con prótesis dental para la medida del pH y se tomaron muestras orales con torunda estéril de la mucosa bucal y de la superficie interna de las prótesis dentales para su posterior estudio microbiológico. Se observó estomatitis protética atrófica en 50 pacientes y el pH salival medio en estos pacientes fue de 5,2. La presencia en las muestras de la mucosa bucal de *C. albicans*, *S. aureus* y *S. mutans* fue de 51,4 %, 52,4 % y de 67,6 %, respectivamente. *C. albicans* se aisló del 66,7 % de las prótesis. *S. aureus* y *S.*

*mutans* se aislaron del 49,5 % de las dichas prótesis. En un 86 % de los pacientes con estomatitis protética atrófica se aisló *C. albicans* y en un porcentaje parecido (84 % de los pacientes) se aisló *S. aureus*. El aislamiento de *S. mutans* fue menos frecuente, observándose en el 16 % de las muestras orales de estos pacientes. *C. albicans*, *S. aureus* y *S. mutans* colonizan con frecuencia la mucosa bucal de pacientes con prótesis dental.<sup>8</sup>

**Fenner, Hemann, Auler y Kuze** (2006) realizaron un levantamiento bibliográfico etnobotánico sobre plantas utilizadas por la población brasilera en tratamiento de signos y síntomas relacionados a infecciones fúngicas. Fueron citadas 409 especies, distribuidas en 98 familias, con mayor concentración en *Fabaceae* y *Asteraceae*. Para las diez especies más citadas, se realizó una búsqueda relativa a estudios de actividad antifúngica en base a datos MEDLINE-PubMed. Solamente fueron encontrados estudios para *Phytolacca americana* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Mirabilis jalapa* L., *Schinus molle* L. Entre las diez especies más utilizadas, seis corresponden a especies nativas: *Anacardium occidentale* L., *Cecropia peltata* L., *Schinus molle* L., *Schinus terebinthinifolius* Raddi, *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e *Tabebuia heptaphylla*.<sup>9</sup>

**Rojas, Ochoa, Ocampo y Muñoz** (2006), evaluaron la actividad antimicrobiana y la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos de *Bidens pilosa* L., *Bixa orellana* L., *Cecropia peltata* L., *Cinchona officinalis* L., *Gliricidia sepium* HB & K, *Jacaranda mimosifolia* D. Don Don, *Justicia secunda* Vahl, *Piper pulchrum* C. DC, *p. Paniculata* L. *Spilanthes americana* Hieron contra cinco bacterias (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*  $\beta$  hemolítico, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*), y uno de levaduras (*Candida albicans*). El etanol, hexano y agua extractos fueron obtenidos por métodos estándar. Todos los microorganismos se obtuvieron de la American Type Culture Collection (ATCC). La CMI se determinó en los extractos de plantas que mostraron cierta

eficacia contra los microorganismos ensayados. Sulfato de gentamicina (1,0  $\mu$  g / ml), clindamicina (0,3  $\mu$  g / ml) y nistatina (1,0  $\mu$  g / ml), se utilizaron como controles positivos. El extracto etanólico de todas las especies se activa frente a *Staphylococcus aureus* a excepción de *Justicia secunda*. Del mismo modo, *Justicia secunda* y *Piper pulchrum* C. DC mostró un análogo MIC contra *Candida albicans* (0,5 y 0,6  $\mu$  g / ml, respectivamente) en comparación con la nistatina (0,6  $\mu$  g / ml). <sup>10</sup>

**Cano Pérez y col.**(2007) demostraron la actividad antimicótica in vitro y la elucidación de algunos de los metabolitos del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) proveniente del distrito de Huacrapuquio (2700 m.s.n.m), Provincia de Tarma. El aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* se obtuvo por el método de destilación por arrastre de vapor de agua. Este fue sometido a análisis físico-químico y determinación de la composición química (elucidación) mediante cromatografía de gases (CG), determinándose los siguientes monoterpenos: Pulegona, Limoneno, Mentona y Mirceno, como responsables de la actividad funguicida-fungistática. Mediante el método de agar en difusión, se determinó la actividad antimicótica, frente a las cepas de: *Candida albicans* y por el método de dilución en tubo la inhibición del crecimiento fúngico de: *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton mentagophytus*, *Microsporun canis*. Los diámetros de la prueba de difusión en agar de *Candida albicans*, fueron de: 30 mm. al 100 % del aceite esencial de muña y 35 mm. al 50% del aceite esencial y en los dermatofitos (*Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton mentagophytus*, *Microsporun canis*.), su crecimiento fue inhibido por el aceite esencial. <sup>11</sup>

**Brasil, Abib, Kozlowski y Schwartz** (2007) demostraron la eficacia de los extractos de bardana, tanchagem y anacardo en proporción de 20, 30 y 100 % frente a microorganismos que originan endocarditis bacteriana. Las muestras estudiadas

incluían suspensiones de cocos Gram positivos (*Staphylococcus aureus*; *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sp* y *Micrococcus luteus*), bacilos Gram positivos (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*; bacilos Gram negativos (*Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*) y muestras de hongo *Candida albicans*, *C. tropicalis* y *C. guilliermondii* en concentración de 10 células. Placas de agar Muller Hinton fueron sembradas con las suspensiones de microorganismos y discos de papel de filtro fueron embebidos con las sustancias a ser estudiadas. Las placas fueron incubadas a 37°C/48h y luego se determinó el diámetro de los halos de inhibición de crecimiento microbiano. El producto que presentó mejor acción antimicrobiana fue el propóleo en las diferentes concentraciones, con acción frente a los cocos Gram positivos, bacilos Gram positivos y negativos. Dentro de las especies de *Candida*, *C. tropicalis* fue más sensible a bardana y *C. albicans* fue la más resistente. La eficacia de productos naturales en la profilaxia direccionada contra los microorganismos causantes de endocarditis bacteriana *in vitro* fue baja, entretanto, se verificó que entre ellos el propóleo fue el más efectivo.<sup>12</sup>

**Cano y Dorantes** (2007) compararon la nistatina y el propóleo en el tratamiento de la *Cándida albicans*, para lo cual se hicieron 12 cultivos de *Cándida albicans* en 3 tipos de agar (Sabouraud, nutritivo y C.M.A.) En 6 de los cultivos se colocó un disco con nistatina y otro de propóleo al 100 %, y en los otros 6 los discos al 50 %. El promedio de halo de inhibición de la nistatina al 100 % fue de 23, 3 mm mientras que el del propóleo al 100 % fue de 4mm. La nistatina al 50 % tuvo 16,5 mm y el propóleo al 50 % de 0 mm. Después del análisis de resultados se concluyó que en el tratamiento de la *Candida albicans*, la nistatina es el tratamiento de elección, mientras que el propóleo no resultó una opción muy eficaz.<sup>13</sup>

**Ccahuana-Vasquez y Solío** (2007) evaluaron la actividad antimicrobiana de diferentes concentraciones de *Uncaria tomentosa* en diferentes cepas de microorganismos aislados de la cavidad oral humana. *Uncaria tomentosa* pulverizada fue probada *in vitro* para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) de acuerdo al método de dilución en agar Mueller-Hinton, en una serie de placas que contenían *Uncaria tomentosa* al 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4% y 5%. La prueba oral fueron realizados con cepas clínicas de *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus spp.* *Candida albicans*, de enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*. La prueba de las concentraciones de Uña de gato osciló entre 0,25-5 % en Mueller-Hinton agar. *Uncaria tomentosa* al 3 % inhibió el 8% de los aislamientos de enterobacterias, el 52 % de *S. mutans* y el 96 % de los *Staphylococcus spp.* Las concentraciones de prueba no presentaron efecto inhibitorio sobre *P. aeruginosa* y *C. albicans*. *Uncaria tomentosa* pulverizada presentó actividad antimicrobiana de las enterobacterias, *S. mutans* y *Staphylococcus spp.* aislados.<sup>14</sup>

**Botelho y Nogueira** (2007) evaluaron la composición y la actividad antimicrobiana de *Lippia sidoides Cham* aceite esencial. El aceite esencial se obtuvo por hidrodestilación. Doce compuestos se caracterizaron por tener como principales componentes timol (56,7 %) y carvacrol (16,7 %). La actividad antimicrobiana del aceite y los principales componentes fue probada contra especies bacterianas cariogénicas del género *Streptococcus*, así como *Candida albicans* utilizando caldo de dilución y ensayos de difusión de disco. El aceite esencial y sus principales componentes (timol y carvacrol) mostraron potente actividad antimicrobiana contra los organismos, probado con concentraciones inhibitorias mínimas desde 0,625 a

10,0 mg / ml. La mayoría de los microorganismos sensibles fueron *C. albicans* y *Streptococcus mutans*.<sup>15</sup>

**Espinosa, Centurión, López, Vera y Cázares** (2008) tomaron como referencia plantas con propiedades antimicrobianas con el objetivo de analizar la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos y hexánicos de Guayaba agria (*Psidium friedrichsthalianum*) y Ciruela (*Spondias purpurea*). Tanto la hoja como la corteza, se colectaron, secaron y molieron. Se obtuvieron los extractos en etanol o hexano en agitación a temperatura ambiente por 24 h, filtrando y concentrando el sobrenadante en un rotavapor y secando en la estufa de vacío a 45°C por 48 h. Para la evaluación de la actividad antimicrobiana se utilizó un diseño completamente al azar con una distribución factorial de 2x2x2x3 con un total de 24 tratamientos, con tres repeticiones. En la determinación de la actividad antimicrobiana mediante el Método de Difusión en Agar sobre *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* y *Bacillus cereus*, se encontró que los extractos etanólico y hexánico de la corteza de *P. friedrichsthalianum* no presentaron actividad antimicrobiana contra los tres microorganismos probados. No obstante, los extractos de las hojas de esta especie presentaron actividad antimicrobiana para dos de ellos: *S. aureus* y *B. cereus*. Se encontró que los extractos de hoja y corteza de *S. purpurea*, no presentaron actividad antimicrobiana contra los tres microorganismos.<sup>16</sup>

**Vivot y Cruanes** (2008) estudiaron los antecedentes etnobotánicos de plantas presentes en la Provincia de Entre Ríos (Argentina), usadas como antiséptico, lo que facilitó la selección de algunas de géneros vasculares: *Myrcianthes pungens*, *Myrsine laetevirens*, *Tessaria integrifolia*, *Acanthospermum australe*, *Arctium*



*minus* y *Polygonum punctatum*. Se ensayaron la actividad antimicrobiana de los extractos vegetales mediante el test de difusión en medio sólido, contra seis especies bacterianas y dos fúngicas, y la actividad antiviral contra virus F (HSV-1) y cepa Sabin (PV-1). Una fracción del extracto etanólico de *A. minus* mostró actividad contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *Micrococcus luteus*. Dos fracciones del extracto diclorometánico de *P. punctatum* exhibieron actividad contra *B. subtilis* y *S. aureus*. El segundo fraccionamiento mostró actividad contra *B. subtilis*, *Micrococcus luteus* y *S. aureus*. En actividad antifúngica, las dos primeras fracciones fueron activas contra *A. niger* y *C. albicans*. Los resultados preliminares del ensayo antiviral evidenciaron actividad en algunos extractos de *T. integrifolia*.<sup>17</sup>

**Daud, Habib y Sánchez** (2008) evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de hojas y corteza secas de *Phragmites australis* (carrizo) frente a *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se maceraron hojas o cortezas secas en etanol 70 % por 5 días, se filtraron, secaron y esterilizaron. La actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método de difusión en placas de agar. Se determinó el efecto del pH, cationes divalentes y temperatura en la actividad antibacteriana. Se establecieron las concentraciones mínimas: inhibitoria (CMI), bacteriostática (CBS) y bactericida (CMB). Se analizó el efecto del extracto etanólico sobre la morfología de *S. aureus* y *P. aeruginosa* por microscopía electrónica de transmisión. Se dilucidó la acción de los extractos sobre integridad estructural y viabilidad bacterianas por fluorescencia. Los extractos etanólicos de hojas y corteza secas de *P. australis* mostraron actividad antimicrobiana contra *S. aureus* y *P. aeruginosa*. El extracto etanólico de corteza presentó menos actividad antimicrobiana que el de hojas, el cual resultó bactericida contra *S. aureus* y

bacteriostático contra *P. aeruginosa*. El extracto causó alteraciones en la permeabilidad de la membrana citoplasmática en *S. aureus*, pérdida de citosol y muerte celular. El cultivo tratado de *P. aeruginosa* mostró presencia de protrusiones y vesículas en la membrana externa.<sup>18</sup>

**Rajesh y col.** (2009) intentó identificar los fitoquímicos presentes en el CNSL (del inglés *Cashew Nut Shell Liquid*) con ayuda de un solvente para el extracto. La actividad antifúngica de acetona, etanol y acetato de etilo de los extractos de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Curvalaria sp* y *Fusarium sp.* fueron estudiados. En distinto rango del espectro antimicótico observados se comparó con los fitoquímicos presentes. Se concluyó que los extractos de etanol poseían un amplio espectro y mayor porcentaje de actividad antifúngica.<sup>19</sup>

**Pino y Stashenko** (2009) evaluaron *in vitro* los extractos totales de 27 plantas usadas contra infecciones, mediante la técnica de dilución en agar, para convalidar la actividad de diferentes dosis frente a *Staphylococcus aureus*, como control positivo se usó sulfato de estreptomicina 10 µg/mL y como control negativo, agar Mueller Hinton; las lecturas se realizaron luego de 24 horas. Las pruebas se realizaron en tres tratamientos para cada extracto probado, por triplicado cada uno. Los resultados mostraron 52 % (14) de las muestras con inhibición total frente a *S. aureus*.<sup>20</sup>

## **2.2. BASES TEÓRICAS**

### **2.2.1. Los Hongos**

Los hongos son seres unicelulares o pluricelulares, con estructura celular eucariótica y, por tanto, con núcleo similar al de los animales y plantas, organelas con membranas intracitoplasmáticas y una pared celular con quitina, polisacárido constituido por el disacárido quitobiosa, que está compuesto por subunidades de N-acetil-glucosamina  $\beta$ -1-4. Carecen de diferenciación tisular, sin embargo poseen nutrición heterótrofa de carbono de tipo absorptivo, por lo que se incluyeron, a partir de la clasificación de Whittaker (1969), en un reino de seres vivos propio para ellos, el reino Fungi.<sup>21</sup>

El esquema de Whittaker ha sido ampliamente aceptado, pero recientemente Carl Woese realizó estudios moleculares comparativos de la estructura y organización de los ácidos ribonucleicos ribosomales (ARNr), por lo que propuso una nueva categoría de mayor rango que el reino y la llamó Dominio, proponiendo tres dominios: Archaea (arqueobacterias), Bacterias (eubacterias) y Eukaria (eucariotes), perteneciendo el reino Fungi a este último.<sup>22</sup>

#### **Estructura funcional**

Los integrantes del grupo pueden presentar dos tipos de organización celular: filamentosa (mohos) o levaduras (unicelular o disociada),<sup>21</sup> pero algunos hongos, especialmente algunos patógenos de animales, pueden existir tanto como filamentosos o como unicelulares.<sup>23</sup>

Las hifas de los hongos filamentosos están constituidas por estructuras pluricelulares alargadas de paredes paralelas, subdivididas en algunos hongos en

compartimentos independientes comunicados por poros (hifas tabicadas). En otros hongos no existen compartimentos y sus hifas se denominan coenocíticas o continuas. Estos filamentos se forman cuando un punto de la célula reproductora presenta una excrecencia que progresivamente se elonga y posteriormente se subdivide al aparecer los tabiques. En cada uno de los compartimentos, cuando existen, o a lo largo de toda la hifa coenocítica, se encuentran los orgánulos típicos de todas las células eucariotas, a veces con más de un núcleo por compartimento. Las hifas, al crecer, van ramificándose y posteriormente se fusionan entre sí por uniones extremo-laterales o uniones extremo-extremo, dando lugar al micelio o talo.

Los tabiques que aparecen a lo largo de las hifas pueden ser completos, parciales o perforados, en cuyo caso suelen estar rodeados por un cuerpo de Woronin.

Los hongos filamentosos pueden presentar dos tipos de hifas y micelios en función de la presencia o ausencia de tabicación ya referida: hifas (o micelios) tabicadas o discontinuas e hifas coenocíticas o continuas.

Las hifas tabicadas o discontinuas poseen un diámetro de 1,5 a 3,5  $\mu\text{m}$ ., sus ramificaciones son regulares y poseen numerosos tabiques, mientras que las hifas no tabicadas, coenocíticas o continuas, tiene un diámetro mayor de 10 a 15  $\mu\text{m}$ ., la ramificación es irregular y los tabiques son escasos, habitualmente separando partes envejecidas o inviables de partes nuevas y viables.

### **Propagación y reproducción**

La multiplicación y consiguiente diseminación en la naturaleza de los hongos puede producirse sin células especializadas o con células especializadas. La

primera forma puede producirse con fragmentos de hifas, como ocurre en los denominados micelios estériles en los que no se forman elementos especializados de diseminación del hongo, o bien con células de pared engrosada destinada a aumentar su resistencia a las condiciones adversas, y que se denominan clamidosporas.

Cuando existen células especializadas para diseminar más eficazmente un hongo en la naturaleza, se habla de elementos de propagación o reproducción, suelen utilizarse indistintamente, pero para emplear el término correcto de propagación debe reservarse para los elementos asexuales y el término reproducción para los elementos sexuales.

La multiplicación con células especializadas puede llevarse a cabo mediante elementos generados sin unión de células masculina y femenina (propagación asexual), hecho que ocurre en todas las divisiones (Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota y Deuteromycota), o bien mediante elementos diferenciados que se conjugan (célula masculina y femenina) (reproducción sexual), hecho que se produce tanto en los Zygomycotas, como en los Ascomycotas y Basidiomycotas.

- **Propagación asexual**

Puede realizarse mediante elementos internos (esporas o endoesporas) o mediante elementos externos (conidios).

- a. Esporas y endoesporas*

Pueden ser móviles o inmóviles. A las primeras se les denomina también zoosporas, y son las que desarrollan los saprolegniales, hongos acuáticos

de vida libre que ocasionalmente se han descrito como productores de enfermedades en peces. Las segundas, inmóviles, reciben el nombre de esporangiosporas por formarse en el interior de una vesícula (o esporangio), y son las propias de los mucorales. Estos últimos interesan desde el punto de vista clínico, por provocar diversos tipos de infecciones, fundamentalmente en pacientes inmunosuprimidos o con alteraciones endocrinas.

Las esporangiosporas (esporas internas inmóviles) son producidas por hongos con hifas no tabicadas (coenocíticas) sobre las que aparece una hifa especializada denominada esporangióforo, cuyo extremo se dilata para formar el esporangio, dentro del que se desarrolla las esporangiosporas. La parte del esporangióforo que hace protrusión dentro de esporangio se denomina columela, mientras que la parte abultada del esporangióforo situada fuera del esporangio, y que solo aparece en algunos géneros como *Absidia*, se denomina apófisis. Cuando el esporangio se rompe y libera las esporangiosporas queda un vestigio alrededor de la columela denominado collarete.<sup>21</sup>

#### *b. Conidios*

Conidio o conidiosporas son las esporas asexuadas externas. Si están implantadas directamente sobre la hifa se llaman sésiles. La parte del micelio que origina y sostiene a las esporas se denomina esporóforo y si se trata de conidios se dice conidióforo.<sup>24</sup> Los conidios pueden diferenciarse según el lugar de aparición, su disposición, su morfología y

estructuras microscópicas, y el proceso de su formación se llama conidiogénesis

Generalmente, los conidios aparecen directamente sobre la célula vegetativa o sobre las células especializadas para formarlas (célula conidiógena), que puede estar dispuesta directamente sobre la hifa especial que la sustenta, denominada conidióforo, la cual puede adoptar una disposición variable. Así, puede aparecer de forma aislada, en cadena o en los extremos de células especializadas para su formación (anélide, fiálide o célula porógena) <sup>21</sup>

Fiálide es la célula conidiógena que desde un extremo origina por brotación y sin aumentar su longitud, los fialoconidios o fialosporas. La pared de la fiálide suele extenderse en el ápice formando un collarín, y Anélide es una célula conidiógena con el ápice ancho y cicatrices en anillo, que se alarga con la formación de cada espora. Los conidióforos pueden ser simples o ramificados y a veces están agrupados en un conidioma. Éstas se forman por sucesión basípeta cuando todas las esporas surgen de la célula conidiógena o basífuga si es por brotación de la espora anterior.

A veces después que se forma un conidio, el conidióforo se alarga lateralmente y origina el segundo conidio. El proceso continúa y las esporas quedan en zig-zag (proliferación simpodial). En algunos hongos

surgen, simultáneamente o no, varios conidios en diferentes puntos de la misma célula conidiógena (brotación múltiple).<sup>24</sup>

Según la forma, los conidios pueden ser esféricos, elípticos, cilíndricos o lenticulares, y según su tabicación, pueden carecer de ella (ameroconidio), poseer un tabique (didimeconidio), dos o más tabiques transversales y longitudinales (dictioconidio).

Para su formación, todos los conidios siguen uno de dos tipos de proceso: diferenciación de una hifa preexistente (conidios tálicos), o gemación a partir de una hifa preexistente o de una célula conidiógena (dictioconidio).<sup>21</sup>

#### • Reproducción sexual

Algunos hongos, para su multiplicación y diseminación realizan procesos en los que se produce la fusión entre una célula masculina y una femenina (gametos), por lo que se denomina reproducción sexual. Esta fusión implica una plasmogonia (fusión de protoplastos), con unión de núcleos (cariogamia), seguida de una reducción del número de cromosomas (meiosis) y, finalmente, una diferenciación en elementos de diseminación denominados esporas. Estas esporas, por haberse formado tras una fusión de gametos, se denominan esporas sexuales.



La reproducción sexual puede ocurrir dentro de un mismo micelio (homotálica) o al fusionarse elementos de dos micelios de signos opuestos (heterotálica).

Existen tres divisiones de hongos con capacidad de dar elementos de reproducción sexual: Zygomycota, Ascomycota y Basidiomycota.<sup>21</sup>

### **Dimorfismo**

El dimorfismo está presente en los patógenos primarios y en algunos hongos oportunistas como *Candida albicans* y esta capacidad del hongo para desarrollar dos tipos de crecimiento (filamentoso y levaduriforme) favorece una mejor adaptación al hospedador y facilita la evasión de los mecanismos defensivos ya que existen diferencias antigénicas entre las dos fases de crecimiento. En los hongos patógenos primarios, el crecimiento filamentoso se produce en el ambiente, mientras que el crecimiento levaduriforme se produce cuando infecta.

En *Candida albicans* el dimorfismo presenta características especiales ya que cuando se encuentra colonizando las mucosas se desarrolla fundamentalmente como levadura, mientras que cuando invade los tejidos se observan levaduras e hifas.

Los filamentos de *Candida albicans* facilitan la adhesión a las células del hospedador, la penetración tisular a la vez que dificultan la fagocitosis. Las hifas son más difíciles de fagocitar que las levaduras y permiten el escape del interior de la célula fagocítica al romper la membrana citoplásmica del fagocito.<sup>25</sup>

## Nutrición

En cuanto al tipo de nutrición, estos organismos desprovistos de clorofila e incapaces de sintetizar los glúcidos que necesitan para vivir, han desarrollado tres sistemas de vida:

- Los saprobios, que pueden descomponer residuos orgánicos para alimentarse. Este es el caso de los hongos comúnmente hallados sobre troncos muertos, como los "Pleurotos" u hongo ostra, e incluso el más conocido "Champiñón".
- Otros son parásitos y extraen las sustancias orgánicas que necesitan de un hospedador al que debilitan y a la larga lo matan.
- El tercer modo de vida es el de los hongos simbióticos, que extraen las sustancias orgánicas de un hospedador, pero que en contrapartida le procuran cierto número de ventajas. Los más conocidos son los "Boletos" y las "Trufas".

Existen hongos con distintas afinidades filogenéticas que encontraron solución a sus requerimientos nutritivos, asociándose simbióticamente con algas. Esta unión, que representa un ejemplo de convergencia fisiológica en el proceso evolutivo, constituye un grupo particular de organismos: los líquenes. Este tipo de relación entre hongos y algas, se conoce como simbiosis. Este hecho demuestra que los líquenes no pueden constituir un grupo taxonómico natural. La sistemática moderna considera el concepto de liquen como biológico y los clasifica dentro del gran reino de los hongos.<sup>23</sup>

## **Clasificación de los hongos**

Los hongos no son un grupo monofilético natural. La conclusión de que han tenido un origen evolutivo separado, está basado en muchas observaciones. Se los agrupa solo con finalidades prácticas hasta tener suficiente información de sus verdaderas relaciones evolutivas.

Las características usadas para agruparlos, como su heterotrofismo, formación de esporas, presencia de quitina en sus paredes y la falta de cuerpos complejos con órganos, pueden ser el resultado de una evolución convergente y no de tener un antecesor común.

En las plantas se trata de seguir un orden natural, agrupándolas según las estructuras involucradas en la reproducción sexual. En los hongos también, para identificarlos y clasificarlos, es necesario contar con este tipo de estructuras; en caso contrario, al hallarse solamente estructuras relacionadas con la reproducción asexual, tradicionalmente se los clasificaba como Deuteromycetes.

- **Phylum Chytridiomycota**

Dentro de los que ahora consideramos reino Hongos, los Chytridiomycetes son los únicos que producen células móviles en su ciclo de vida, aunque con un solo flagelo posterior en forma de látigo.

- **Phylum Zygomycota**

Entre los Zygomycetes quizá los más conocidos sean algunos representantes del orden Mucorales como *Mucor* o *Rhizopus*, pero en

realidad el grupo tiene integrantes que representan líneas evolutivas muy dispares.

Están caracterizados por un micelio aseptado, cenocítico, con septos en la base de las estructuras reproductoras o septos secundarios. El nombre del grupo proviene de la presencia en parte de su ciclo de una zigospora característica.

- **Phylum Ascomycota**

Los Ascomycetes están caracterizados por la presencia en su ciclo de vida, de una célula fértil, llamada célula ascógena, denominada asco, que producirá endógenamente 8 ascosporas (típicamente). Esta célula ascógena proviene de un ascogonio y en general está dispuesta en una capa de células similares y en estructuras características denominadas cleistotecio, peritecio o apotecio.

Los representantes de este grupo prácticamente se encuentran poblando todo tipo de hábitat, y pueden presentar cualquier tipo de forma de nutrición, ya sea saprobios, parásitos o simbioses.

### **Phylum Basidiomycota**

Los Basidiomycetes están caracterizados por la presencia de una célula fértil en su ciclo de vida, llamada basidio, que produce exógenamente 4 basidiosporas (típicamente). Normalmente originadas en tétrade, desde un basidio por medio de un esterigma que es una prolongación del ápice del basidio, desde donde, generalmente, son violentamente expulsadas, por lo que reciben el nombre de balistosporas, aunque en Gasteromycetes las

basidiosporas no son expulsadas violentamente, por lo que se denominan estatismosporas.

Para asegurar la manutención del estado dicariótico heterocariótico del micelio secundario, una buena parte de los Basidiomycetes presentan una estructura peculiar denominada fíbula, la cual asegura que cada célula hija resultante, tenga la combinación original de núcleos distintos y compatibles.

También aquí encontramos organismos que pueden habitar los más variados ambientes y vivir como saprófitos, parásitos y simbiontes. Descompone las raíces de los árboles, produciendo una enfermedad denominada "podredumbre de raíz", pero sus estructuras reproductivas son comestibles. Cumple además, un rol muy importante en la naturaleza, ya que los claros producidos en el bosque por los árboles caídos por esta enfermedad, son ocupados por nuevas coníferas que aumentan la diversidad de edades y tipo de árboles en el bosque.<sup>21, 26</sup>

Desde el punto de vista práctico, es más útil una clasificación clínicopatológica, que agrupe a los hongos según su capacidad para afectar a una u otra zona del organismo parasitado.<sup>21</sup>

Las enfermedades micóticas se dividen en cuatro grupos bien definidos: Micosis superficiales, micosis cutáneas, subcutáneas y sistémicas; teniendo evolución aguda, subaguda o crónica.

Las micosis superficiales y cutáneas son las más comunes y están causadas en su mayoría por un grupo de hongos denominados Dermatofitos. La

*Candida albicans* y las infecciones por dermatofitos están clasificadas entre las infecciones de Micosis superficiales, ya que están limitadas a las capas superficiales de la piel incluyendo el extracto córneo y de las mucosas, con muy poca o ninguna invasión de las células vivas. En la mayoría de los casos, éstas son lesiones benignas, superficiales y restringidas. Este tipo de infecciones en su totalidad no es mortal, aunque pueden atacar a nivel sistémico. Estos microorganismos tienen la propiedad característica de digerir queratina y son el único grupo de hongos que ha evolucionado para constituirse en agentes infecciosos de hombres y animales <sup>27</sup>.

## Tipos clínicos de infecciones por Hongos <sup>28</sup>

Tomado del libro de Microbiología de Burrows

TIPO	ENFERMEDAD	MICROORGANISMO CAUSAL
INFECCIONES SUPERFICIALES	Pitiriasis versicolor	<i>Malasezia furfur</i>
	Piedra	<i>Trichosporum beigeii</i> (blanca) <i>Piedraia hortai</i> (negra)
INFECCIONES CUTANEAS	Tiña del cuero cabelludo, piel sin vello y uñas	Dermatofitos ( <i>Microsporum sp.</i> , <i>Trichophyton sp.</i> , <i>Epidermophyton sp.</i> )
	Candidiasis de la piel, membranas, mucosa y uñas.	<i>Candida albicans</i> y especies relacionadas.
INFECCIONES SUBCUTANEAS	Cromoblastomicosis	<i>Fonsecea pedrosoi</i> y formas relacionadas.
	Micetoma micótico	<i>Pseudalleschia boydii</i> , <i>Madurella</i>
	Entomoftromicosis	<i>mycetomatis</i> .
	Rinosporidiosis	<i>Basidiobolus ranarum</i>
	Lobomicosis	<i>Conidiobolus coronatus</i> .
	Esporotricosis	<i>Rhinosporidium seeberi</i> <i>Loboa lobo</i> . <i>Sporothrix schenckii</i>
INFECCIONES SISTEMICAS	<b>Infecciones por hongos patógenos.</b>	<i>Histoplasma capsulatum</i>
	Histoplasmosis	<i>Blastomyces dermatitidis</i>
	Blastomicosis	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
	Paracoccidioidomicosis	<i>Coccidioides immitis</i>
	Coccidioidomicosis	<i>Cryptococcus neoformans</i>
		<i>Aspergillus fumigatus</i> .
	<b>Infecciones por hongos oportunistas</b>	<i>Mucor sp.</i> , <i>Absidia sp.</i> , <i>Rhizopus sp</i>
	Criptococosis	<i>Candida albicans</i> .
	Arpergilosis	
	Mucormicosis	
	Candidiasis sistémica	

## Utilidad de los Hongos

• **Hongos ornamentales.** Por la belleza que guardan los hongos, muchos se han usado con un fin estético y ornamental, incluyéndoselos en ofrendas que, acompañados con flores y ramas, son ofrecidas en diversas ceremonias. Los hongos que destacan entre los más empleados con este fin son los hongos psilocibios y la *Amanita muscaria*; esta última se ha convertido en el estereotipo de seta por lo altamente llamativa que es, ya que está compuesta por un talo blanco y una sombrilla (basidiocarpo) roja, moteada de blanco.

• **Hongos Alimenticios.** Quizás el primer empleo directo que se les dio a los hongos es el de alimento. Mucho se ha discutido sobre el valor nutritivo de ellos, sin bien es cierto a la mayoría se les puede considerar con elevada calidad porque contienen una buena proporción de proteínas y vitaminas y escasa cantidad de carbohidratos y lípidos. Dentro de los más consumidos tenemos: *Boletus edulis*, *Lactarius deliciosus*, *Russula brevipes* y *Amanita caesarea*. Otros hongos que se consumen notablemente son: *Agaricus campestris* y *A. bisporus*, en nuestro medio vulgarmente conocidos como "champiñones" u "hongos de París"; la importancia de éstos se debe a que son de las pocas especies que pueden cultivarse artificialmente y de manera industrial.

Los hongos microscópicos también han invertido directa o indirectamente para la creación de fuentes alimenticias y representan una expectativa de apoyo para el futuro; en este campo cabe citar los trabajos de obtención de biomasa, a partir de levaduras como *Candida utilis*, que se usa para mejorar el alimento forrajero.



- **Hongos Alucinógenos.** Los hongos alucinógenos cobran particular importancia en Mesoamérica, debido a que se encuentran ampliamente distribuidos. Al igual que con los individuos del género *Claviceps*, los hongos alucinógenos como los hongos psilocibios han sido utilizados últimamente por la industria farmacéutica para la extracción de productos con fines psicoterapéuticos (psilocibinas y psilocinas).

- **Hongos Benéficos.** Desde el descubrimiento por Fleming de la penicilina como un metabolito del mecanismo antagónico que tienen los hongos contra otros microorganismos, se ha desarrollado una gran industria para el descubrimiento, separación y comercialización de nuevos antibióticos.

- **Hongos Contaminantes** Los hongos contaminantes resultan un grave problema para el hombre; dentro de las setas cabe mencionar las que parasitan y pudren la madera, como *Coniophara* o las comúnmente denominadas "orejas". Sin embargo, el mayor perjuicio se obtiene de los hongos microscópicos, sobresaliendo los mohos que pueden atacar y degradar.

- **Hongos venenosos** En la naturaleza, solo ciertas variedades de hongos son comestibles, el resto son tóxicos por ingestión pudiendo causar severos daños multisistémicos e incluso la muerte.

Especies como la *Amanita Phalloide*, *Cortinarius orellanus*, *Amanita muscaria*, *Chlorophyllum molybdites*, *Galerina marginata* o la *Lepiota helveola* debido a sus enzimas tóxicas para el ser humano causan síntomas como: taquicardias, vómitos y cólicos dolorosos, sudor fría, exceso de sed y caídas bruscas de la presión arterial, excreciones sanguinolientas. La víctima

contrae graves lesiones necróticas en todos los órganos especialmente en el hígado y el riñón. Estos daños son muchas veces irreparables y se requiere trasplante de órganos por lo general.

El reconocimiento de estos hongos requiere adquirir el reconocimiento visual de la morfología de los hongos venenosos. Una prueba útil y práctica es la llamada prueba de la moneda de plata, que en contacto con el hongo sospechoso, produce la oxidación de la plata brillante a un color negro ( $\text{Ag}_2\text{O}$ ).

Como tratamiento ambulatorio a aplicar si se sospecha el consumo de hongos venenosos, es provocar la inmediata expulsión mediante vómitos de la víctima y dar el llamado Antídoto universal, llevar al afectado a urgencia médica antes de las 4 horas de haberlos consumido para atención de extrema urgencia.<sup>23</sup>

#### **2.2.1.1. Género *Candida***

##### **TAXONOMIA**

Reino: Hongo

División: *Deuteromycota*

Clase: *Blastomycetes*

Familia: *Cryptococcaceae*

Género: *Candida*

Especies: *albicans* (como la más frecuente y virulenta) y otras especies.

El Género *Candida* comprende más de 150 especies, cuya principal característica es la ausencia de forma sexual, con excepción de algunas especies micóticas. Son clasificadas como levaduras, las cuales corresponden a hongos con un modo de desarrollo predominantemente unicelular.<sup>29</sup>

Solamente una docena de las especies pertenecientes al Género *Candida* poseen la facultad de adaptarse a una temperatura de 37°C. y pueden ser ocasionalmente patógenas para el hombre, estas son entre otras: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. kefyr* (*pseudotropicalis*), *C. krusei*, *C. guilliermondi*, *C. parakrusei*, *C. zeylanoides*, *C. stellatoidea* y *C. brumptii*.<sup>21, 30</sup>

A través de estudios de biología molecular mediante la prueba de Southern Blotting, utilizando enzimas de restricción para fragmentar el ADN, se demostró que *C. albicans* y *C. stellatoidea* son idénticas. Recientemente, se publicó un reporte donde se hace mención a los nombres viejos, incorrectos u obsoletos que se le daban a algunas especies de *Candida* y a los nombres aceptados actualmente. Es así como *C. clausenii* y *C. stellatoidea* están reclasificadas en la actualidad como *C. albicans*.<sup>31</sup>

### **Características Generales**

*C. albicans* suele presentarse como una célula oval levaduriforme de 2 a 4 micras, grampositivas, con paredes finas; sin embargo, en tejidos infectados también se han identificado formas filamentosas de longitud variable, con extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro y pseudohifas, que son células alargadas de levadura que permanecen unidas entre sí.<sup>21</sup>

El material blanco que crece en los medios de cultivo consiste desde el punto de vista microscópico, en pseudomicelio actualmente llamados filamentos de *C. albicans*. Se presenta bajo condiciones de cultivo semianaeróbico o facultativo y está formado por células elongadas que se mantienen unidas entre sí como una cadena y blastoconidias o blastosporas que están agrupadas en montones a lo largo del pseudomicelio, en los sitios en que los extremos finales de las células pseudomiceliales se empalman con otras. En contraste con otras especies de *Candida*, *C. albicans* tiene una marcada tendencia a formar esporas grandes de pared gruesa, denominadas clamidosporas, sobretudo cuando se cultivan en un medio especial como Agar Harina de Maiz; la clamidospora tiene un diámetro de 7 a 8 micras y casi siempre se origina en el extremo del pseudomicelio. Es una importante característica morfológica en la identificación de *C. albicans*. Asimismo, tiene la capacidad para producir tubos germinales (filamentación en suero) cuando las colonias son inoculadas en 0,5 ml. de suero a temperatura de 37°C. observándose los resultados después de 2 o 3 horas. La formación de tubos germinales en suero está afectada directamente por la concentración celular en el inóculo, ya que la proporción de células capaces de formar filamentos, disminuye progresivamente al aumentar la concentración celular por encima de 10<sup>7</sup> células por ml. El rango de temperatura en el cual se forman los tubos germinales oscila entre 31°C y 41°C.<sup>30,32</sup>

La composición química de *C. albicans* está representada por 20-40% de proteínas y 30-50% de polisacáridos, mientras que la proporción de lípidos es variable. La fracción lipídica va a depender de la cepa, edad del cultivo, condiciones ambientales y del origen de la fuente de carbono.

La pared celular de *C. albicans* está compuesta principalmente por los polisacáridos Manano, Glucano y Quitina. Aunque la síntesis de los componentes de la pared celular está dinámicamente influenciada por las condiciones de crecimiento y por los estadios metabólicos. El polisacárido manano representa aproximadamente entre 15,2 % y 22,9 % del peso seco y poco más de 40 % de los polisacáridos de la pared celular del hongo. El D-glucano  $\beta$ -1-3 y el D-glucano  $\beta$ -1-6 constituyen entre 47 % y 60 % del peso seco de la pared celular. Otros componentes han sido reportados, tales como proteínas en cantidades que oscilan entre 6 % y 25 %, lípidos entre 1 % y 7 % y quitina entre 0,6 % y 9 % del peso de la pared celular. Las proporciones de los componentes que constituyen la pared celular de las levaduras y de los tubos germinales es relativamente similar, aunque la cantidad de glucano alcali-soluble y alcali-insoluble y de quitina de *C. albicans* varía de acuerdo con la forma de crecimiento.

Estudios ultraestructurales de la pared celular de *C. albicans* han demostrado una compleja microarquitectura. La pared tiene un espesor variable y está compuesta por varias capas, las cuales se han puesto de manifiesto por diferencias en la densidad electrónica. El número de capas y su morfología varían; esta variación está relacionada con varios factores tales como: la etapa de crecimiento celular, la forma de crecimiento (como levadura o como tubo germinal), la capa seleccionada para su estudio, el medio de cultivo empleado para el crecimiento celular y los procedimientos de fijación. La mayoría de los investigadores han descrito cinco capas dentro de la pared celular, las cuales son (de adentro hacia afuera): manoproteínas,  $\beta$ -glucán-quitina,  $\beta$ -glucán, manoproteínas y una capa de fibrillas.

Los polisacáridos del tipo manano están localizados a lo largo de la pared celular y éstos, predominan en las zonas de alta densidad electrónica. Las capas internas de la pared celular están compuestas mayormente por quitina y glucano. Estos componentes le dan rigidez a la célula y son esenciales para la división celular. Están presentes tres tipos de glucano: 1) Glucano  $\beta$ -1,6 altamente ramificado, 2) Glucano  $\beta$ -1,3 altamente ramificado y 3) Un Glucano muy complejo  $\beta$ -1,6- $\beta$ -1,3 mezclado con quitina. Las proporciones de ciertos tipos de glucano difieren entre las levaduras y los tubos germinales de *C. albicans*. Durante las primeras etapas de la formación del tubo germinal, se sintetiza casi exclusivamente Glucano  $\beta$ -1,3<sup>22</sup>. La quitina se encuentra en las células en forma de levadura, en las hifas y en los tubos germinales, aunque la proporción es mayor en las hifas.

La capa externa de fibrillas de la pared celular de *C. albicans*, tanto en levaduras como en hifas está compuesta de Manano o Manoproteínas, aunque este componente también está localizado en varios lugares de la pared celular. Esta capa ha sido descrita en ocasiones como un revestimiento mucoso o capsular. El Manán ha sido identificado como el principal antígeno de la superficie celular de *C. albicans*. basado en estudios de adsorción y aglutinación, se agruparon a *C. albicans* en dos serotipos designados A y B.<sup>21</sup>

32

Básicamente, la representación de las Manoproteínas de la pared celular de *C. albicans* está constituida por residuos de manosa unidos entre sí por enlaces  $\alpha$ -1,6, los cuales se unen a la porción de proteína a través de dos residuos de N-acetil glucosamina (unidos entre sí por enlaces  $\beta$ -1,4) y un residuo de

Asparagina y residuos de Manosa que se unen a la proteína a través de residuos de los aminoácidos Serina y Treonina.<sup>32</sup>

La membrana citoplasmática es una estructura que reviste gran importancia, ya que los antibióticos antimicóticos actúan a nivel de la misma, además de contener las enzimas responsables de la síntesis de la pared celular. Esta presenta una doble capa compuesta por lípidos y posee invaginaciones, que se observan como surcos de 200 a 300 nanómetros de longitud, por 35 a 40 nanómetros de espesor. Además de los lípidos, la membrana citoplasmática está compuesta por grandes cantidades de proteínas y carbohidratos en menor proporción.

En el citoplasma, al igual que otras células eucarióticas, *C. albicans* presenta: ribosomas, mitocondrias con doble capa, gránulos de glucógeno y vacuolas que contienen, en algunas ocasiones, cuerpos lipídicos y gránulos de polifosfato. El núcleo es típico de una célula eucariótica, con membrana nuclear limitante, uno o varios nucleolos, ADN y ARN y varios cromosomas.

El metabolismo de *C. albicans* se ha relacionado de una forma directa o indirecta con la patogenicidad, la morfología o con los efectos de los antibióticos antimicóticos. El metabolismo de los carbohidratos juega un papel importante en la morfogénesis, en tanto que el metabolismo de aminoácidos y lípidos tiene poca importancia para el crecimiento de este microorganismo.

Se han podido detectar distintos tipos de fosfolípidos en diversas especies de *Candida* provenientes de cavidad bucal, tales como *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. kefyr*. Los principales fosfolípidos identificados fueron: Fosfatidiletanolamina y Fosfatidilglicerol.

Estos fosfolípidos son muy importantes en relación con el normal funcionamiento de la membrana citoplasmática de los hongos antes mencionados.

En un estudio reciente, se determinaron cambios fenotípicos en cepas de *C. albicans* aisladas de la cavidad bucal de pacientes con trasplante renal. Se ha sugerido que las cepas del hongo en las que se observaron los cambios fenotípicos, pueden adaptarse a diferentes condiciones ambientales debido a variaciones en sus propiedades bioquímicas, físicas y fisiológicas.<sup>32</sup>

### **Cultivo**

Las especies de *Candida* crecen bien en medios de cultivo con agar, peptona, dextrosa, maltosa o sacarosa. Las colonias muy pequeñas aparecen en un lapso de 24 a 36 horas en agar Sabouraud y miden de 1,5 a 2 mm. de diámetro después de 5 a 7 días. Las colonias son típicamente blancas por completo, pero adquieren un color crema o requemado al continuar envejeciendo. Para aislarlas de las muestras clínicas que siempre llevan bacterias se agregan antimicrobianos como el Cloranfenicol al medio simple.

En agar Sabouraud o en otros medios de cultivo similares, las colonias que crecen son lisas, suaves, húmedas y de color y aspecto cremoso. Estas colonias tienen un tamaño que oscila entre 1,5 y 2 mm. de diámetro, con aspecto de levadura, de consistencia blanda y rápidamente proyectan filamentos hasta la profundidad del agar. Después de 4-5 días se percibe un olor característico de levadura. Otros medios de cultivo en los cuales puede crecer *C. albicans* son: Pagano-Levin, en el cual las colonias se observan de color crema, Albicans ID (Biomerieux), donde las colonias se observan de color azul y CHROMagar®



*Candida* (CHROMagar), observándose las colonias de esta especie de color verde.

Las colonias de *Candida* crecen “in vitro” en condiciones de aerobiosis en medios de cultivo a pH con rango entre 2,5 y 7,5 y temperatura que oscila entre 20 °C y 38 °C. El crecimiento de colonias se puede detectar entre 48 y 72 horas después de la siembra, y los subcultivos pueden crecer más rápidamente.

La habilidad de las levaduras de crecer a 37 °C es una característica importante a ser considerada en su identificación a partir de muestras clínicas. Las levaduras más virulentas crecen rápidamente a temperaturas que oscilan entre 25 °C y 37 °C, mientras que las poco virulentas dejan de crecer a 37 °C.

### **Ecología**

Los microorganismos del género *Candida* son oportunistas que se encuentran como comensales en cavidad bucal, intestino, vagina, secreción bronquial y piel del hombre y de ciertos animales. En la cavidad bucal la colonización es significativamente distinta de sitio a sitio.<sup>30</sup>

En la cavidad bucal de sujetos portadores de especies de *Candida*, *C. albicans* comprende entre 60 % y 70 % de los aislamientos, *C. tropicalis* comprende 7 %, en tanto que *C. kruzei* y *C. guilliermondii* son aislados con mucha menor frecuencia.

Una etapa temprana y esencial en el desarrollo de la Candidiasis bucal es la colonización de la cavidad bucal por parte de *C. albicans*, un proceso que involucra la adquisición, adherencia y mantenimiento de una población estable

de levaduras. La boca posee muchos nichos para la colonización por parte de esta especie, incluyendo entre otros, células epiteliales, prótesis dental y células bacterianas de la flora bucal residente.

No obstante, la capacidad de infección por *Candida* disminuye porque existe un equilibrio biológico con la flora comensal bacteriana. Las otras especies de *Candida* se encuentran en la piel, el tubo digestivo y en la naturaleza. *C. albicans* jamás está presente de manera prolongada en la piel sana, excepto en la región perianal.

La presencia de *C. albicans* como comensal en las membranas mucosas de sujetos asintomáticos es común, por lo que en sujetos sanos, existe un balance entre los mecanismos de defensa del hospedero y el potencial invasivo por parte de las levaduras. Sin embargo, cuando el sistema de defensa del hospedero se daña, tal y como ocurre en sujetos inmunosuprimidos o médicamente comprometidos, la infección por *C. albicans*, así como por otras especies de *Candida* puede derivar en el establecimiento de una Candidiasis, la cual se puede manifestar bien sea de manera superficial, involucrando la mucosa bucal, o diseminada, la cual constituye una forma invasiva más seria.

21, 32

*C. albicans* se puede encontrar en condición facultativamente patógena, desde un estado saprofítico simple, pasando por el comensalismo, hasta la situación de patógeno. Se encuentra libre en la naturaleza donde puede ser aislado, siendo frecuente encontrarlo en la leche bovina. En el ser humano se encuentra como comensal en el tracto respiratorio e intestinal, en la vagina y boca, sobre la piel, donde reside con mayor frecuencia entre los pliegues naturales que son

sitios relativamente calientes y de mayor humedad. Resulta muy difícil la infección por *C. albicans* de animal a hombre, siendo el ciclo de infección más común de animal a animal y de hombre a hombre.<sup>32</sup>

### **Factores de virulencia**

- Adherencia:

Las interacciones físicas de *C. albicans* con el hospedero son a nivel de la superficie celular, y los constituyentes proteicos de la pared celular de esta levadura, involucrados en esta unión, se han designado como adhesinas. El componente que es reconocido en el hospedero por el microorganismo se conoce como ligando o receptor, entre ellos se encuentran: fibronectina, fucosa, N-acetilglucosamina, CR1, CR2, CR3, CR4. *C. albicans* se adhiere a células epiteliales, células endoteliales, factores solubles, componentes de la matriz extra celular y materiales inertes implantados en el cuerpo del hospedero. Los ligandos o receptores de estos sitios en el hospedero son diversos, y representan toda clase de moléculas, incluyendo carbohidratos, proteínas y lípidos. El gran repertorio de adhesinas desplegado por esta levadura refleja la variedad de sitios en el hospedero que pueden ser invadidos. La interacción de estas adhesinas con el hospedero tiene implicaciones directas para la patogénesis, ya que pueden modular (activar o inhibir) la respuesta inmune. Los mananos y las mananoproteínas despliegan la más potente actividad inmunomoduladora, capaz de regular virtualmente todas las armas que posee el sistema inmune (células asesinas naturales,

fagocitos, la inmunidad mediada por células y los mecanismos humorales).<sup>33</sup>

Por otra parte, se ha señalado que las blastosporas de *Candida* se adhieren mejor a las células de la mucosa bucal y al acrílico de las prótesis, cuando se hallan en la fase estacionaria que cuando están en la fase exponencial de crecimiento.<sup>34</sup>

- Hidrofobicidad de la pared celular:

Se ha demostrado que la hidrofobicidad de la superficie celular está relacionada con la adherencia de blastosporas de *Candida* a las células epiteliales humanas y a los materiales plásticos.

Por otra parte, se ha sugerido que los cambios que se suscitan en las proteínas de la capa externa de la pared celular de *C. albicans*, son los responsables de las variaciones hidrofóbicas a hidrofílicas en esta especie. Las células hidrofóbicas de *C. albicans* se unen difusa y abundantemente a los tejidos del hospedero, en tanto que la unión de las células hidrofílicas se restringe a sitios específicos del hospedero. Las células hidrofílicas, se unen a regiones con macrófagos, en contraste con las células hidrofóbicas, las cuales se unen a los tejidos en aquellos lugares del hospedero libres de macrófagos, por lo que las células hidrofílicas son más fáciles de remover del organismo por fagocitosis que las células hidrofóbicas, las cuales pueden colonizar el epitelio.

La adherencia de las especies de *Candida* a las superficies plásticas es mediada por fuerzas de atracción de London-van der Waals (fuerzas

hidrofóbicas y fuerzas electrostáticas). Asimismo, la habilidad de las especies de *Candida* para adherirse a las superficies de acrílico de las prótesis, puede conferirle a estos microorganismos un acceso directo al hospedero humano.

- Hifas

Se ha demostrado que existe una estrecha correlación entre la formación del tubo germinal y el incremento de la adherencia de *C. albicans* a las células epiteliales bucales, por lo que se ha sugerido desde entonces que este pudiera ser uno de los mecanismos relacionados con la virulencia por parte de las especies de *Candida*. También existen evidencias de que durante la formación de las hifas, se producen proteinasas que ayudan a romper la integridad de la mucosa bucal.

Varios factores regulan la transición de *C. albicans* de blastosporas a hifas. Estos incluyen: temperatura y pH del medio de crecimiento, medios que contienen sustancias inductoras como suero, N-acetil-D-glucosamina, L-prolina y etanol.

Se ha demostrado “*in vitro*” que, temperaturas que oscilan entre 37°C y 40°C, pH entre 6,5 y 7,0, así como la presencia de una concentración inicial de blastosporas que no exceda de 10<sup>6</sup>/ml., son esenciales para el crecimiento de las hifas al cabo de varias horas. También se ha demostrado que a pH 2,6, las células adherentes de *C. albicans* eran capaces de formar hifas, pero las células suspendidas de este hongo no tenían esa capacidad.

Es importante resaltar que, la presencia de fuentes de carbono y nitrógeno son esenciales para la transformación de blastosporas a hifas en *C. albicans*.

- Enzimas

Estudios revelaron que la Fosfolipasa A y la Lisofosfolipasa producidas por cepas de *C. albicans* firmemente adheridas a las células epiteliales bucales, eran las fosfolipasas con mayor actividad enzimática. Se ha sugerido que las hifas producidas por *C. albicans* pueden tener fosfolipasas, las cuales permiten su entrada a las células epiteliales del hospedero. También se ha reportado que las fosfolipasas extracelulares y las proteasas ácidas pueden activarse a pH bajos.

Se ha demostrado que las proteinasas juegan un papel importante en la adherencia y en la invasión de *Candida* al epitelio bucal. Por otra parte, se ha podido determinar que luego de la ingestión de blastosporas de *Candida* por parte de los macrófagos, el hongo sintetiza rápidamente proteinasas, seguido de una actividad proteolítica y de la formación de tubos germinales por parte de las blastosporas fagocitadas que conllevan a la destrucción de los macrófagos.

- Bacterias de la cavidad bucal:

Las bacterias pueden contribuir a la colonización y proliferación de especies de *Candida* en la cavidad bucal. Un estudio puso en evidencia que la coagregación de *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus gordonii*,

*Streptococcus oralis* y *Streptococcus anginosus* con *C. albicans* se incrementa en ausencia de glucosa. También demostraron estos autores que, al someter a las blastosporas de *Candida* al calor o a la presencia de proteasas, se elimina la coagregación con *S. sanguis* y con *S. gordonii*.<sup>32</sup>

Se ha comprobado que la adhesión de *C. albicans* a algunas especies de *Streptococcus* de la cavidad bucal, particularmente *S. gordonii* y *S. sanguis*, es promovida por la adsorción selectiva de las proteínas salivales ricas en prolina sobre la superficie celular de los cocos. Asimismo, se ha afirmado que, el reconocimiento selectivo de proteínas salivales adheridas a los cocos por parte de *C. albicans*, podría constituir un mecanismo para la colonización de esta especie en la cavidad bucal.

35

- Saliva:

Se ha demostrado que la presencia de saliva incrementa la adhesión de las formas de levaduras de *C. albicans*, ya que la saliva no posee solamente sustancias que inhiben el crecimiento microbiano, sino que también tiene compuestos como las glicoproteínas del tipo mucinas que incrementan la capacidad de *Candida* de adherirse a la superficie de acrílico de las prótesis dentales, favoreciendo así la aparición de Estomatitis sub-protésica.<sup>36</sup>

Se ha podido determinar que, la reducción de los niveles de humedad en la cavidad bucal, favorece el crecimiento de bacterias como *Staphylococcus aureus*, que es resistente a la desecación e inhibe a otros

microorganismos comensales que necesitan de altos niveles de humedad.<sup>37</sup>

- pH:

Se ha sugerido que el medio ambiente ácido favorece la colonización de la cavidad bucal por parte de especies de *Candida*. La reducción del pH salival, que habitualmente oscila entre 5,6 y 7,8, como ocurre bajo las prótesis dentales removibles, favorece la adhesión del hongo,<sup>34</sup> ya que se han observado valores bajos de pH en muestras de placa dental obtenidas de prótesis removibles superiores de pacientes con Estomatitis sub-protésica quienes mantenían dietas ricas en glucosa y sacarosa.<sup>37</sup>

También se ha reportado que, en presencia de pH salival bajo y de altas tensiones de O<sub>2</sub> se altera el medio ambiente bucal, trayendo como resultado una reducción en el número de microorganismos de los Géneros *Veillonella*, *Neisseria* y *Micrococcus*, así como un incremento en el número de *S. mutans* y de especies pertenecientes a los Géneros *Candida* y *Lactobacillus*.<sup>38</sup>

## **Epidemiología**

Las enfermedades que produce esta levadura son de distribución universal, y afectan a personas de cualquier sexo y edad, con un pico en los extremos de la vida, tanto en lactantes como en gerontes. A nivel de la boca, la candidiasis es la micosis más frecuente. Además, su incidencia ha aumentado considerablemente, debido a la mayor longevidad a los tratamientos con agentes inmunosupresores y a la pandemia de SIDA, entre otras causas.<sup>30</sup>



### **2.2.1.2. Candidiasis oral**

Las candidiasis o candidosis son las infecciones micóticas orales más frecuentes y fue la afectación oral por *Candida* la primera forma clínica descrita históricamente. Actualmente su incidencia está en aumento en los países desarrollados debido a diferentes factores facilitadores como la generalización del uso de prótesis dentales, la xerostomía, las múltiples terapias con antibióticos, inmunosupresores, antineoplásicos, etc., e incluso la mayor supervivencia de los pacientes con inmunodeficiencias.

De estar clásicamente asociada a la infancia y a la ancianidad, esta enfermedad ha pasado a ser una manifestación común en otros grupos de pacientes como los infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) o los sometidos a terapias inmunomoduladoras o antineoplásicas. La candidiasis oral, fue descrita como enfermedad asociada en el primer caso de sida publicado, y constituye la infección fúngica más frecuente en los pacientes VIH (+). Se considera que hasta un 90 % de los individuos infectados por VIH sufrirán al menos un episodio de candidiasis orofaríngea.

De un modo general la candidiasis oral puede ser definida como "la enfermedad del paciente enfermo", ya que siempre va a precisar de uno o varios factores predisponentes para poder provocar patología en la boca.

La forma pseudomembranosa de la candidiasis oral o muguet es la presentación clínica mejor conocida. Sin embargo, otras formas clínicas como la candidiasis eritematosa o la queilitis angular asociada a *Candida* son más

frecuentes en la actualidad. La prevalencia de estas formas de candidiasis oral no se conoce bien ya que en muchos casos pasan desapercibidas para el clínico. Sin embargo, su diagnóstico es muy importante ya que la forma eritematosa o la queilitis puede ser la primera manifestación de una alteración sistémica, incluida la infección por VIH.

Otras formas clínicas como la hiperplásica o leucoplásica, mantienen aspectos controvertidos tanto en su patogenia como en su verdadero significado. En los pacientes VIH (+) parece existir una progresión clínica en las candidiasis desde formas clínicas leves iniciales como la eritematosa o la queilitis angular a formas más graves y tardías cronificadas del tipo pseudomembranoso o hiperplásico. Esta progresión puede estar relacionada con la evolución de la inmunosupresión, el número de linfocitos CD4 y la carga viral. Las candidiasis orales constituyen en estos pacientes una característica clave de la enfermedad por VIH y han sido incluidos como marcadores en la clasificación de la enfermedad

### **Cuadro clínico**

Desde comienzos del siglo pasado se observó que la candidiasis oral podía presentar distintas manifestaciones clínicas e histopatológicas. Posteriormente se diferenció entre unas formas primarias y otras formas secundarias en las que la candidiasis oral era una manifestación más de la infección candidiásica sistémica mucocutánea.

Las candidiasis orales primarias se subdividieron en agudas y crónicas en base a su persistencia, según la clasificación inicial propuesta por Lehner en 1966, que reconocía unas formas agudas: pseudomembranosa y atrófica y unas formas crónicas: atrófica (estomatitis protética) e hiperplásica. Posteriormente sobre esta base se realizaron otras clasificaciones que no aportaron datos especiales. Luego, se propuso una nueva clasificación al considerar que las formas pseudomembranosas podían presentar un curso crónico en algunos pacientes. Además, propusieron sustituir el término "atrófica" por el de "eritematosa", ya que estas lesiones, que aparecían rojas, representaban un aumento de la vascularización que coexistía con un engrosamiento o adelgazamiento del epitelio.

Actualmente consideramos las siguientes formas clínicas de candidiasis oral: candidiasis pseudomembranosa (agudacrónica), candidiasis eritematosa (agudacrónica), candidiasis hiperplásica (leucoplásica), lesiones asociadas (estomatitis protética, queilitis angular, glositis rómbica, queilitis exfoliativa), candidiasis mucocutáneas (crónicas). Cuando dos o más de estas formas clínicas aparecen juntas se le denomina candidiasis oral multifocal. *Candida* puede estar también implicado en el eritema gingival lineal, la periodontitis necrótica y la queilitis exfoliativa, procesos descritos en la enfermedad por VIH, aunque su exacto papel aún no está claramente definido.

### **Factores predisponentes**

La presencia de *Candida albicans* en determinados procesos infecciosos, está dada por la existencia de ciertos factores pre disponentes:

- Daño en la integridad de la piel por maceración de sus tejidos, heridas, abrasión por quemaduras térmicas o químicas y por presencia de catéteres vasculares.
- Alteración de la barrera mucocutánea por diabetes, uso de agentes antimicrobianos, irritación por incidencia de humo, uso de drogas citotóxicas, corticoides, realización de vagotomía resultando un aumento del pH gástrico, entubaciones nasogástricas o diafragmas.
- Desbalance nutricional u hormonal provocado por diabetes, anticonceptivos orales, preñez, malnutrición y uremia.
- Disminución del número de células fagocitarias como resultado de leucemia, granulomatosis, aplicación de radiaciones o quimioterapia contra el cáncer.
- Defectos intrínsecos en las funciones de las células fagocitarias como resultado de enfermedades granulomatosas crónicas y deficiencia de mieloperoxidasa.
- Alteración de la función fagocitaria causada por uremia, enfermedades virales y el uso de corticoides y agentes antimicrobianos como aminoglucósidos y sulfamidas.<sup>14</sup>

## **Diagnóstico**

Las infecciones orales generalmente son diagnosticadas por la apariencia y los síntomas. El diagnóstico se puede confirmar raspando una lesión y examinándola con microscopio. Para este fin es conveniente obtener material por raspaje de la lesión y de la lengua pero por separado, debido a que éste es el lugar más parasitado incluso en estado de salud.<sup>30, 39</sup>

La observación se puede realizar en fresco si se dispone de microscopio al momento; pueden efectuarse preparados aclarados con hidróxido de potasio si hay algo de capa córnea. Los preparados y fijados con el método Gram ayudan a identificar la biota acompañante. Los extendidos que no han sido fijados se pueden fijar con el método Giemsa. A veces se recurre a una técnica de fluorescencia inespecífica con buenos resultados; es la técnica del blanco de calcoflúor. Si la muestra es positiva, se visualizan los elementos unicelulares brotantes y con cierta frecuencia pseudohifas.

Actualmente se han detectado otras especies de *Candida* no *albicans* resistentes al tratamiento; también se ha comprobado que hay pacientes que están parasitados por más de una especie de *Candida*. Para esto, es conveniente tomar una muestra más o menos abundante por hisopado o raspaje e introducirla en caldo BHI como medio de enriquecimiento y transporte. En laboratorio, se transplanta a medio Sabouraud con antibiótico. Es aconsejable que estas siembras se realicen por diseminación para aislar posibles colonias diferentes.

Sólo en contadas ocasiones se aconseja efectuar una toma de biopsia. Ésta, como es de rigor, se divide en dos trozos, uno para estudio histopatológico y otro para estudio micológico.

El diagnóstico indirecto, por medio de pruebas serológicas, no es útil para esta enfermedad, ya que *Candida* no despierta respuesta humoral en esta localización.<sup>30</sup>

## Tratamiento

Existen dos metas en el tratamiento de la candidiasis bucal en adultos. La primera consistirá en extremar la higiene, controlar los factores locales y mejorar la capacidad de funcionamiento del sistema inmunitario del individuo; por ejemplo, en los pacientes diabéticos, el buen control de la diabetes puede ser suficiente para eliminar la infección sin necesidad de otro tratamiento.

Las prótesis dentales se pueden colocar en una solución de hipoclorito sódico diluido (5-10 %) durante la noche después de haberlas cepillado enérgicamente con detergente. Si presentan depósitos calcáreos se pueden dejar unas horas en ácido acético diluido. Si la causa detectada es local, se deberán eliminar estos factores (pérdida de la dimensión vertical, suspensión de antibioticoterapia, si es posible; adaptación de prótesis, etc.).

Los buches alcalinos (agua bicarbonatada, etc.) mejoran los cuadros leves. También se puede usar hidróxido de magnesio y gluconato de clorhexidina al 0,2 %, la violeta de genciana en solución acuosa al 0,5- 1 % o en pincelaciones del 1 al 5 % al igual que el azul de metileno,<sup>1,6-8,11,33,34</sup> con el inconveniente de que estos últimos manchan antiestéticamente los tejidos bucales.<sup>22, 39</sup>

La segunda meta es el tratamiento directo de la infección. Para este propósito, se puede prescribir enjuagues bucales antimicóticos o tabletas para chupar y generalmente se administran por 5 a 10 días.<sup>29</sup> Se deben chupar lentamente y no mascar ni tragar enteras. Algunas marcas comunes son clotrimazol (Mycelex) y nistatina (Mycostatin).

Los enjuagues bucales generalmente son menos efectivos que las pastillas ya que están en contacto con la boca sólo durante un breve espacio de tiempo. Sin embargo pueden resultar la mejor opción para personas que tengan la boca muy adolorida y muy seca. Los enjuagues se deben tomar entre comidas, una cantidad moderada y el líquido se debe mantener dentro de la boca todo el tiempo que sea posible. Se debe poner a circular en el interior de la boca, y luego tragarlo. Se toman al menos cuatro veces al día y deben seguir usándose unos cuantos días después de que desaparezcan los síntomas (por lo general dos semanas.) El enjuague más usado es la nistatina (Mycostatin).<sup>39</sup>

La nistatina es derivado del *Streptomyces noursei* y pertenece al grupo químico polieno antifúngico. Actúa tanto como fungistático como fungicida, dependiendo de la concentración. Se fija a los esteroides de la membrana celular de los hongos, desorganizando su configuración espacial, lo que lleva a una alteración de la permeabilidad de la membrana con pérdida de aminoácidos, purinas e iones por parte del hongo, con alteración del metabolismo celular. Es tóxica para la administración parenteral y su uso solamente es tópico. La nistatina no se absorbe en grado importante por la piel, por las mucosas o por el tracto gastrointestinal, por lo que es poco importante la toxicidad cuando se da por vía oral.<sup>40</sup>

Los tratamientos sistémicos se emplean para brotes recurrentes de candidiasis o que no desaparecen con un tratamiento tópico. También se utilizan para la candidiasis esofágica. Tres medicamentos contra los hongos han sido aprobados para su uso en el tratamiento de la candidiasis oral y esofágica: El ketoconazol (Nizoral), el fluconazol (Diflucan) y el itraconazol (Sporanox).<sup>39</sup>

Estos medicamentos pertenecen a la familia de los azoles. Los fármacos del grupo azol son compuestos sintéticos que pueden ser clasificados como imidazoles o como triazoles, dependiendo al número de átomos de nitrógeno en el anillo azol de cinco miembros. La actividad antimicótica resulta de la disminución de la síntesis del ergosterol por inhibición de las enzimas del sistema citocromo P450; la especificidad de estos fármacos resulta de su mayor afinidad para enzimas del hongo que para las del humano.

El continuo aumento de reportes de cepas resistentes sugiere que el mayor uso profiláctico y terapéutico de estos agentes puede favorecer el desarrollo de resistencia en ciertos medios. Por otro lado, se ha comunicado que todos los azoles producen anormalidades en las enzimas hepáticas y, de manera más rara, hepatitis clínica.<sup>40</sup>

Por lo general, los médicos empiezan con la terapia menos agresiva (como el ketoconazol o el itraconazol) y reservan el fluconazol que es más potente para usar después, si es necesario. Si la candidiasis no mejora con estos medicamentos (por ejemplo si se hace resistente al azole) con frecuencia se ensaya otro medicamento llamado anfotericina B (Fungizone).

La dosis habitual de fluconazol es de 200mg una vez al día para la candidiasis oral y esofágica. El tratamiento tópico tiene una duración de dos semanas para la candidiasis oral.

El itraconazol generalmente se toma en dosis de 100mg una vez diaria para la candidiasis oral durante un período de una a dos semanas. También debe tomarse con comidas. La solución oral de itraconazol introduce en la sangre un



nivel más alto del medicamento y se ha demostrado que es más efectivo. Existe una mayor probabilidad de que se presenten interacciones entre el itraconazol y muchas de las terapias contra el VIH.

El Ketoconazol (Nizoral) se toma generalmente en dosis de 200mg una vez al día para la candidiasis oral durante un período de una a dos semanas. Debe tomarse con comidas. Es posible que se presenten dificultades para su absorción entre personas con problemas intestinales o que no pueden comer mucho. Podría resultar más fácil si se toma con una bebida ácida (refrescos gaseosos por ejemplo).

La anfotericina B (Fungizone) se administra como solución oral (4 dosis diarias de 100mg) o por medio de inyecciones intravenosas (generalmente 5mg/kg diariamente) durante un período de dos a tres semanas.<sup>39</sup> La anfotericina B es un antibiótico antimicótico producido por *Streptomyces nodosus*. Químicamente es un macrólido polieno anfótero. Es poco soluble en agua por lo que es preparado como una solución coloidal de anfotericina B y de desoxicolato de sodio para inyección intravenosa. Es un fungicida selectivo debido a las diferencias de la composición lipídica entre las membranas celulares del hongo y de los mamíferos. El ergosterol es un esterol de la membrana celular de los hongos, mientras que el esterol predominante en bacterias y humanos es el colesterol. La anfotericina B se une al ergosterol y altera la permeabilidad celular, formando poros en la membrana celular. Estos poros permiten la salida de iones macromoléculas e intracelulares, lo que conlleva a la muerte celular.<sup>40</sup>

## El Tratamiento de la Candidiasis Oral <sup>41</sup>

Tomado de la Revista on-line Proyecto Inform

Nombre del medicamento	Dosis	Efectos secundarios	Notas
<b>Terapias Tópicas</b>			
<b>Clotrimazole</b> (Mycelex), pastillas	10mg 4-5 veces al día durante una a dos semanas	Puede alterar el sentido del gusto y producir malestar estomacal	Chupar lentamente; no mascar ni tragar entera
<b>Nystatin</b> (Mycostatin), Pastilla	1-2 pastillas de 4 a 5 veces al día	Puede causar irritación en la boca; náuseas	Chupar lentamente; no mascar ni tragar entera
<b>Nystatin</b> (Mycostatin), suspensión oral	5ml cuatro veces diarias durante 7 a 14 días	Puede producir malestar estomacal	Poner a girar en la boca antes de tragar
<b>Terapias Sistémicas</b>			
<b>Ketoconazole</b> (Nizoral), tableta	200mg diarios, de 7 a 14 días; 400mg diarios, de 14 a 21 días*	Náuseas, vómitos, malestar estomacal; toxicidad en el hígado	Observar las funciones hepáticas mientras se está empleando. Tomar con comidas
<b>Itraconazole</b> (Sporanox)	100mg diarios, de 7 a 14 días; 200mg diarios, de 14 a 21 días*	Náuseas, vómitos, malestar estomacal; toxicidad en el hígado	Observar las funciones hepáticas mientras se está tomando este medicamento.
<b>Fluconazole</b> (Diflucan)	200mg diarios, de 7 a 14 días; 400mg diarios, de 14 a 21 días*	Náuseas, vómitos, malestar estomacal; toxicidad en el hígado	Observar las funciones hepáticas mientras se está tomando este medicamento.
<b>Amphotericin B</b> (Fungizone) <b>Amphotericin B, complejo lípidico</b> (Abelcet)	100mg diarios cuatro veces al (suspensión oral); 0.5mg/kg diarios, de 14 a 21 días (intravenoso)*	Para la versión intravenosa: toxicidad en el riñón, pérdida de electrolitos, fiebre, escalofríos, sudores	En el caso de la suspensión oral, poner a girar en la boca antes de tragar. Observar las funciones hepáticas mientras se está empleando.
<b>Otros</b>			
<b>Violeta de genciana</b> (solución en agua al 1%)	Aplicar en las áreas afectadas dos veces diarias durante tres días	Puede causar inflamación	Disponible sin prescripción. Resulta útil para infecciones recurrentes cuando se aplica cada siete días durante un mes; aplicación puede ser desagradable.

## **Prevención**

La candidiasis oral recurrente en las personas que viven con VIH es común especialmente a medida que declina el recuento de células CD4+. Por esa razón, el método más importante de prevención de la candidiasis oral podría ser el fortalecimiento del sistema inmunológico, pues así se detiene o desacelera el curso de la infección del VIH.

Se debe instruir al enfermo acerca de las técnicas de higiene bucal y sobre el cuidado de las prótesis e implantes o de cualquier otro dispositivo que se deba colocar en la cavidad oral. Otros métodos de prevención incluyen el uso de sustancias contra los hongos, dejar de fumar, evitar los antibióticos innecesarios, el alcohol, los azúcares y los esteroides. Cuando hay hiposalivación se pueden indicar salivas artificiales.

La terapia tópica y la violeta de genciana también pueden ser eficaces como medida preventiva.

Se deben examinar cuidadosamente todas las bocas para prevenir el trauma. En aquellos pacientes que sigan presentando factores de riesgo habrá que controlar periódicamente la cavidad bucal. <sup>30, 38</sup>

### **2.2.2. Género *Staphylococcus***

#### **TAXONOMIA**

Reino: Bacteria

Filo: Firmicutes

Clase: *Bacilli*

Familia: *Staphylococcaceae*

Género: *Staphylococcus*

Especies: *aureus*

### **Características generales**

*Staphylococcus* es un género de gran importancia en patología humana, constituyendo una de las causas más comunes de infecciones supurativas localizadas. Este género recibe su nombre por el aspecto de racimos de uvas que presentan estos microorganismos cuando se desarrollan en medios sólidos. La especie *S. aureus* es la principal patógena para el hombre, siendo capaz de destruir directamente los tejidos o provocar enfermedades a través de las toxinas que produce.<sup>21</sup> Poseen una enzima, la coagulasa, que los diferencia del resto de las especies del género; esta tiene la facultad de reaccionar con el fibrinógeno dando lugar a un coágulo de fibrina. Poseen igualmente una desoxirribonucleasa (Dnasa) que es una nucleasa exocelular que depolimeriza el ADN. A esta enzima se la denomina termonucleasa por ser termoresistente en las cepas de aureus.<sup>14</sup>

### **Características microbiológicas**

El *S. aureus* es un coco inmóvil grampositivo cuyo diámetro varía de 0,5 a 1,5  $\mu\text{m}$ , que se divide en tres planos para formar grupos de células irregulares semejantes a racimos de uvas. En extendidos de pus o líquidos, los cocos aparecen solos, en pares, en racimos o en cadenas cortas. Unas pocas cepas producen una capsula o capa de baba que incrementa la virulencia del microorganismo y no originan esporas.

Los estafilococos son aerobios y anaerobios facultativos. Tiene actividad metabólica tanto oxidativa como fermentativa. Son relativamente resistentes al

calor. Aunque su temperatura óptima de crecimiento es de  $36 \pm 1$  °C, pueden desarrollarse también a 45 °C y hasta soportan temperaturas de 60 °C durante media hora presentan una buena tolerancia a la desecación y son más resistentes que otras bacterias a ciertos desinfectantes como cloruro de mercurio y fenol.<sup>14, 21,</sup>

31

## **Cultivos**

Se desarrollan bien en cultivos como TSB y agar sangre. Pueden crecer en medios que contengan cloruro sódico al 10 % y esta propiedad de tolerancia a la sal se usa para preparar medios selectivos de aislamiento. Entre ellos pueden usarse agar Chapman con manitol y ClNa al 7,55, agar feniletanol o agar Columbia CNA. También pueden crecer en medios sintéticos que contengan aminoácidos y vitaminas. Para su desarrollo en condiciones de aerobiosis requieren uracilo y una fuente de carbono fermentable.

Las colonias de estafilococos son circulares, de 2 a 8 mm. De diámetro, convexas, desde translucidas a opacas, grises-blanquecinas, amarillas o naranjas. Cuando se cultivan en medios enriquecidos, la producción de pigmento es óptima, particularmente cuando se dejan las placas a temperatura ambiente de 20 a 24 °C. La pigmentación en agar sangre es más frecuente en *S. aureus*, cuyas colonias son amarillo dorado.

La prueba más utilizada para distinguir *S. aureus* de otros estafilococos es la producción de coagulasa, que existe bajo dos formas, libre y ligada. Las cepas pueden dividirse por fagotipia, no así las de los estafilococos coagulasa negativa,

ya que en la actualidad no existen procedimientos estandarizados de fagotipados para los mismos.

### **Habitat**

Las tres especies de mayor interés en patología humana están ampliamente repartidas, como comensales, en mucosas, especialmente la nasofaringe y la piel.

En la cavidad bucal, se encuentran en cantidades normalmente pequeñas, bien como resultado de un efecto inhibidor de la saliva o por el de otras bacterias presentes. Aún así, *S. aureus* y *S. epidermidis* se aíslan con cierta frecuencia de placas dentales, especialmente en las asociadas a implantes, y en la saliva de individuos sanos.

### **Patogenicidad**

Las infecciones estafilocócicas se inician habitualmente tras su penetración por las glándulas sebáceas, los folículos pilosos o a través de lesiones cutáneas, ocasionando supuración. La formación de abscesos, lesiones características de estos microorganismos, se debe a la necrosis de los tejidos profundos causada por la multiplicación bacteriana, y a la formación, en el caso de *S. aureus*, de una pared de fibrina como resultado de su actividad coagulasa. En el caso de infecciones graves, desde la dermis las bacterias invaden los ganglios linfáticos y, difundiendo por la vía hemática, producen septicemias e infecciones metastásicas.

La patogenicidad de *S. aureus* va ligada a componentes estructurales, toxinas y enzimas, también influyen factores predisponentes del hospedador.

### *Componentes estructurales*

- Mureína. Induce a los monocitos a producir pirógenos endógenos, estimula la quimiotaxis de los polimorfonucleares, activa el complemento, determina la aparición de cuerpos opsonicos y tiene, en general, una actividad similar a las endotoxinas, y así produce leucopenia, trombocitopenia y un síndrome de shock séptico.
- Ácidos teicoicos (Polisacárido A). Inducen anticuerpos opsonizantes, intervienen en la adhesión a las cubiertas de fibronectina de las células del hospedador, intensifican la activación del complemento y causan reacciones de hipersensibilidad inmediata cuando se inyectan por vía intradérmica en los seres humanos.
- Capsula. Presente solo en algunas cepas. Es de naturaleza polisacárido, como cualquier elemento capsular, esta dotada de actividad antifagocitaria por sus propiedades antiopsonicas.
- Proteína A. Situada superficialmente en la pared celular, puede, en algunos casos, liberarse al exterior. Habitualmente, su capacidad patogénica va ligada a su unión a la porción Fc de las inmunoglobulinas G (excepto IgG3); de esta forma, bloquea la fagocitosis al no poder unirse dicha porción a los receptores que para la misma poseen las células fagocíticas.
- Coagulasa ligada o factor de agrupamiento. Es una proteína que interactúa con el fragmento D del fibrinógeno, originando una cubierta de fibrina alrededor de una o varias unidades de estafilococos. De esta forma, se agregan unas bacterias con otras quedando protegidas de la fagocitosis.

## ***Toxinas***

Las toxinas  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$  son exotoxinas que lesionan membranas celulares, especialmente de hematíes, por lo que son conocidas como hemolisinas. En algunos casos se desconoce su mecanismo de acción y sus repercusiones patogénicas, ya que muchos datos se han obtenido a partir de ensayos in vitro o in vivo en animales de experimentación, pero en condiciones muy concretas.

- Toxina  $\alpha$ . Es la responsable de la  $\beta$  hemólisis en los cultivos. No actúa sobre hematíes humanos, pero sí sobre los de algunos animales, hemolizándolos. Además, es citotóxica para leucocitos y fibroblastos. Cuando se inyecta por vía intradérmica, causa necrosis de la piel o dermonecrosis. Inoculada por vía intravenosa, es letal para los animales de experimentación, produciendo fibrilación ventricular, agregación plaquetaria y espasmos de musculatura lisa. Es la hemolisina que más se ha relacionado con la patogenicidad humana. Sin embargo, se desconoce la forma exacta de su mecanismo de acción pareciendo que se integra en regiones hidrofobias de las membranas celulares alterando su integridad.
- Toxina  $\beta$ . Su efecto citotóxico se ejerce degradando la esfingomielina, actuando en mayor o menor intensidad sobre los hematíes, los leucocitos, los macrófagos y los fibroblastos, dependiendo del contenido de esta sustancia y su distribución superficial. Refuerza la  $\beta$  hemólisis de la toxina  $\alpha$  en los medios de cultivo sólidos con sangre, si después de una incubación a  $36^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  se hace otra posterior a  $4^{\circ}\text{C}$ .



- Toxina  $\gamma$ . Su mecanismo de acción es desconocido, es citotóxica para hematíes de diversos animales (incluso del hombre), para leucocitos y linfoblastos.
- Toxina  $\delta$ . Degrada la foafatidilserina y ejerce un efecto detergente sobre las superficies celulares. Como la toxina  $\alpha$ , es dermonecrótica. Ejerce un efecto citotóxico sobre hematíes, macrófagos, leucocitos y plaquetas. En el íleon de conejo inhibe la absorción de agua y estimula la producción intracelular de AMPc (adenosin monofosfato cíclico), con lo que aumenta la liberación de agua y electrolisis a la luz intestinal, pudiendo ser la responsable de diarreas agudas.
- Leucocidinas. Son distintas de las hemolisinas. Están formadas por dos proteínas electroforéticas distintas: F (rápida) y S (lenta). Tiene acción sobre leucocitos polimorfonucleares y macrófagos, lesionando sus membranas y alterando de forma letal su permeabilidad.
- Exfoliatina. Responsable del síndrome estafilocócico de la piel escaldada (SEPE). Rompe los desmosomas, uniones celulares por estructuras de membrana, del estrato granuloso más superficial de la epidermis, provocando la separación y desaparición del mismo.
- Toxina 1 del síndrome de shock toxico. Esta proteína (TSST-1) origina por mecanismos no bien conocidos, un cuadro de shock grave. Parece suprimir la síntesis de IgM, inducir la producción de interleucina 1 y factor de necrosis tumoral por los macrófagos y aumentar la susceptibilidad del hospedador a las endotoxinas bacterianas.
- Enterotoxinas. Causan gastroenteritis. Son proteínas relativamente termoestables, que parecen actuar sobre el centro del vómito y aumentar el

peristaltismo intestinal bien por inhibición simpática o por una acción irritante gastrointestinal directa.

### ***Enzimas***

- Catalasa. La descomposición del agua oxigenada en agua y oxígeno molecular, por la catalasa, podrían interferir en la destrucción intrafagocítica mediada por radicales tóxicos de oxígeno.
- Coagulasa libre. Es un profermento que en presencia de protrombina, o un cofactor del plasma de conejo (coagulase reacting factor, CRF), o ambos, forman el fibrinógeno en fibrina, determinando la formación de coágulos intravenosos.
- Hialuronidasa. Aumenta el poder invasivo de los estafilococos al hidrolizar el ácido hialurónico, mucopolisacarido constituyente fundamental de los tejidos.
- Estafilocinasa. Actúa sobre la fibrina por activación de una profibrinolisisina, destruyendo los coágulos de fibrina y pudiendo, al menos teóricamente, facilitar la formación de microtrombos y las metástasis sépticas.
- Lipasas. Tales como fosfolipasas esterasas, capaces de metabolizar las grasas cutáneas.
- Nucleasas. Hidrolizan el ADN de las células eucariotas, por lo que podrían contribuir a las lesiones tisulares.

### ***Factores predisponentes del hospedero.***

Produce una amplia gama de sustancias capaces de justificar su virulencia. Sin embargo, no todas las cepas tienen el mismo potencial de patogenicidad y en las que se aíslan de procesos infecciosos no están presentes todos los factores que se han mencionado. Estas sustancias y componentes estructurales son antigénicas en mayor o menor grado, pero rara vez se producirán anticuerpos neutralizantes de todos los efectos biológicos, aunque a veces individualmente puede producirse una neutralización específica (por ejemplo anticuerpos frente a la exfoliatina). Así pues, aunque en el suero de los pacientes se detecten algunos anticuerpos (por ejemplo, frente a los ácidos teicoicos), tras pequeñas infecciones de piel o mucosas, en bacteremias prolongadas o en focos secundarios infecciosos, su valor pronóstico es muy relativo. Parece que la defensa frente a las infecciones estafilocócicas es esencialmente celular, siendo la fagocitosis el factor más importante. En cualquier caso, como *S. aureus* forma parte de la microbiología normal del hospedador, son necesarias algunas condiciones para que se convierta en patógeno. Estas pueden reunirse en tres grupos:

- Trastornos de la barrera cutáneo-mucosa. Es el caso de los traumatismos, los cuerpos extraños, las intervenciones quirúrgicas, las quemaduras, y cualquier situación que altere la continuidad de esta barrera.
- Defectos de la fagocitosis. Se da en la quimiotaxis, tanto congénitos como adquiridos, también en los mecanismos bactericidas intraleucocitarios o en la opsonización.
- Trastornos generales de los mecanismos de defensa. Como en los casos de neoplasias, administración de corticoides o adicción a drogas, entre otros.

Mención especial merecen los diabéticos, no solo porque se colonizan más fácilmente, sino también por el estado hiperosmolar que determina alteraciones funcionales leucocitarias.

## **Epidemiología**

*S. aureus* forma parte de la flora normal del ser humano. El sitio más frecuente de colonización es la zona anterior de las vías nasales, aunque también puede colonizar la piel (en particular si está lesionada), la vagina, las axilas, el perineo y la bucofaringe. Se sabe que 25 a 50 % de los sujetos sanos pueden estar colonizados por *S. aureus* de manera persistente o transitoria. La frecuencia de colonización es mayor entre los diabéticos insulín dependientes, los sujetos infectados por el VIH, los usuarios de drogas inyectables, los pacientes sometidos a hemodiálisis y los individuos con lesiones cutáneas. Los sitios de colonización actúan como reservorios de cepas para futuras infecciones por *S. aureus* y las personas colonizadas están expuestas a un mayor riesgo de nuevas infecciones (por la especie colonizadora) que las no colonizadas.

En general, *S. aureus* es una causa importante de infecciones nosocomiales. Es la causa más frecuente de infección en las incisiones quirúrgicas. Los aislados nosocomiales son cada vez más resistentes a múltiples fármacos. A nivel comunitario, *S. aureus* sigue siendo una causa importante de infecciones cutáneas y de partes blandas, de infecciones respiratorias y (en las personas que consumen drogas inyectables) de endocarditis infecciosa. El número de infecciones de tipo comunitario por estafilococos se ha incrementado al aumentar los pacientes sometidos a infusiones terapéuticas domiciliarias.

Varios informes han descrito infecciones comunitarias (en medios tanto rurales como urbanos) causadas por *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) en sujetos sin exposición previa de tipo médico. A diferencia de las cepas de MRSA de origen nosocomial, estos microorganismos aislados en la comunidad han seguido siendo sensibles a muchos antibióticos no betalactámicos. Un aspecto preocupante ha sido la aparente capacidad que poseen las cepas comunitarias de MRSA para causar cuadros graves en personas inmunocompetentes; tal facultad quizá dependa de la presencia de diferentes genes toxígenos en estas especies, y también del empleo de agentes betalactámicos como tratamiento empírico de los pacientes infectados por ellas. Casi todas las personas que terminan por padecer infecciones por *S. aureus* lo hacen a partir de sus propias cepas colonizadoras. Sin embargo, *S. aureus* también puede adquirirse de otras personas o por exposición ambiental. Por lo general, la transmisión se origina en una colonización transitoria de las manos del personal sanitario, que así transfieren estas cepas de un paciente a otro. También se ha señalado la propagación de estafilococos en aerosoles procedentes de las secreciones respiratorias o nasales de individuos intensamente colonizados.

## **Tratamiento**

Esta bacteria produce la enzima penicilinasa, pero hay que tomar en cuenta que está logrando un alto grado de tolerancia contra penicilinas resistentes a penilicinasas como la oxacilina, cloxacilina y dicloxacilina. Penicilina 4<sup>a</sup> Generación (Meticilina), si no es resistente (SARM *Staphylococcus aureus* Resistentes a Meticilina). Estos *Staphylococcus* resistentes a Meticilina son muy peligrosos ya que provocan multitud de infecciones nosocomiales (contraídas en

el hospital) y son multiresistentes a gran cantidad de antibióticos (además de éste); se ha visto que estos microorganismos pueden ser ahora sensibles a la penicilina G. Han provocado un gran problema en los países desarrollados, siendo estos patógenos portada de periódicos en numerosos países.

### **Prevalencia**

Con el propósito de elaborar un mapa bacteriológico y su resistencia antibiótica en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) del país se llevó a cabo una revisión sistemática. De los artículos identificados, ocho fueron evaluados por su calidad de información a través de una lista de cotejo adaptada para estudios de prevalencia.

De un total de 830 muestras Para prevalencia distribuidas en 611 de vías respiratorias bajas, 61 de hemocultivos, 52 de heridas infectadas y 87 de punta de catéter; y 589 muestras para resistencia distribuidas en 261 para *Pseudomonas sp.* y 328 para *Staphylococcus aureus*, resultó que *S. aureus* y el género *Pseudomonas* fueron los microorganismos más prevalentes en UCI, excepto en vías urinarias. La resistencia de *S. aureus* a oxacilina fue de 62.8%, y a vancomicina 0.9% de resistencia intermedia.<sup>43</sup>

#### **2.2.3. Medicina natural**

Medicina Natural es un concepto amplio que trata una gran variedad de medicinas complementarias y alternativas, incluyendo: medicina herbaria, suplementos dietéticos, homeopatía, acupuntura, terapia neural, biomagnetismo, digitopuntura, y otras de las muchas medicinas alternativas que existen actualmente.

La teoría del poder curativo de la naturaleza comenzó alrededor del siglo V y IV antes del Cristo y fue descrito por seguidores de Hipócrates y Galeno entre los años 460 y 200 A.C. La doctrina sostiene que la naturaleza dota al organismo humano con poderes internos para restaurarse a si mismo su salud. Una teoría más moderna por el Dr. Henry Lindlahr establece que la enfermedad es causada por la desviación de las leyes naturalezas, y que la enfermedad por si misma es una evidencia del intento del organismo por intentar corregir la situación retornando el organismo a su estado natural, es decir a la homeostasis con su ambiente.

Otro elemento importante de la Medicina Natural es el principio del tratamiento de la persona total. La Medicina Natural es el arte del tratamiento de la persona y no la enfermedad, mediante el tratamiento individualizado.<sup>41</sup>

#### **2.2.2.1. Fitoterapia**

El empleo de las plantas medicinales con fines curativos es una práctica que se ha utilizado desde tiempo inmemorial. Durante mucho tiempo los remedios naturales, y sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso de que disponían los médicos. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales y ampliar sus experiencias en el empleo de los productos que de ellas se extraen.

Muchas de las especies vegetales utilizadas por sus virtudes curativas entre los antiguos egipcios, griegos y romanos pasaron a formar parte de la farmacopea medieval, que más tarde se vio enriquecida por el aporte de los conocimientos del Nuevo Mundo. Dichas plantas medicinales y los remedios que entonces utilizaban se siguen usando hoy en día.<sup>41</sup>

El uso de productos naturales con poder curativo ha sido ejercido desde hace mucho tiempo por personas de todo el mundo contra diversas dolencias. Varias indicaciones fitoterápicas son de conocimiento popular y son de fácil acceso por la población en general. Este conocimiento tradicional empírico se ha asociado al conocimiento científico, como forma segura de permitir el uso de agentes fitoterápicos en la odontología alternativa.<sup>12</sup>

A principio de este siglo, el desarrollo de la química y el descubrimiento de complejos procesos de síntesis orgánica desembocaron en la puesta en marcha, por parte de la industria farmacéutica, de una nueva producción de medicamentos. Para la fabricación de muchos de ellos utilizaron los principios activos de determinadas plantas medicinales, creyendo que las acciones imputables a dichas sustancias, se verían incrementadas, al poder realizar terapias donde la cantidad de principio activo es superior al que posee la planta. Nada más lejos de la realidad, ya que se comprobó que las propiedades de dichas sustancias, eran menos eficaces y existía peligro de producir intoxicaciones e intolerancias, cosa que no ocurría con la utilización de la planta entera.

No debemos olvidar que los remedios a base de plantas medicinales presentan una inmensa ventaja con respecto a los tratamientos químicos. En las plantas los principios activos se hallan siempre biológicamente equilibrados por la presencia de sustancias complementarias, que van a potenciarse entre sí, de forma que en general no se acumulan en el organismo, y sus efectos indeseables están limitados. Sin embargo, a pesar de que han aumentado las investigaciones y estudios científicos de las plantas medicinales, todavía no se conocen muchos de los principios activos a los que deben las plantas sus extraordinarias cualidades.<sup>41</sup>



#### 2.2.2.2. *Anacardium occidentale*

##### **Taxonomia**

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clases: Magnoliopsida

Orden: Sapindales

Familia: Anacardiaceae

Género: *Anacardium*

Especie: *occidentale* <sup>43</sup>

##### **Nombres comunes**

Casho (Perú), marañón, cashew (Colombia), acajuiba, acajaiba, marañón (Brasil), merey (llanos de Colombia y Venezuela), cashew nut (islas de las Antillas), cashew apple(Hawai), Cajueiro, anacardo, cashu, , caju, Acajou, acaju, , alcayoiba, anacarde, anacardier, cacajuil, Cajou, gajus, jocote , Acajou d'Noix, pomme Cajou (Haití), pomme, jambu, jambu Golok, jambu mete, jambu monyet, jambu terong. <sup>43, 44</sup>

##### **Historia**

Su nombre original es “caju” palabra que proviene de “acajum”, que pertenece a un dialecto indígena de Brasil, se dice que en el año 1558 un monje y naturalista

francés llamado André Thevet, ya hace referencia en sus relatos e ilustraciones a las plantas y su fruto.

Cuando llegaron los colonizadores portugueses les llamó mucho la atención las propiedades nutricionales de sus nueces, se dice que los portugueses llevaron las semillas a La India para 1568 y a partir de aquí fue introducido en el sudoeste asiático, llegando a África en la segunda mitad del siglo XVI.

Las primeras importaciones de semillas desde la India fueron hechas por los Estados Unidos en el año 1905. Entre este año y 1914 ocurren las exportaciones de semillas a Francia e Inglaterra.

Para 1923 la India exportaba 45 toneladas de semillas hacia los Estados Unidos, en aquella época, el viaje entre la India y Norteamérica tenía una duración aproximada de 45 a 50 días. Ya para 1941 la India crea un monopolio mundial gracias a la exportación de este producto.

A causa de la segunda guerra mundial las exportaciones sufrieron una paralización en 1943, pero fue reanudada cuando el gobierno norteamericano permitió el comercio de las nueces desde la India para conseguir su aceite corrosivo ya que era considerado de interés bélico para el país.

En 1956 se creó en Brasil un campo experimental del Instituto de Investigación y Experimentación Agropecuaria del Nordeste con el fin de experimentar con siembras de Merey a gran escala para su posterior estudio. Para 1965 se realizó un trabajo de selección en el campo experimental lleno de plantas para estudiar sus aspectos morfológicos, en 1976 se inició un programa de desarrollo agronómico

de la siembra de semillas de merey injertando genes de una planta de Merey adulta en una planta joven para obtener los frutos en un menor tiempo.

En los años 90 y comienzos del siglo XXI hubo un aumento en las exportaciones de Merey, convirtiéndose en uno de los alimentos con mayor demanda en el mundo.<sup>41</sup>

### **Descripción**

Anacardo es un árbol multipropósito de la Amazonía que crece hasta 15 m. de alto. Tiene un tronco espeso y tortuoso con ramas tan serpenteantes que con frecuencia llegan al suelo. Actualmente todos sus componentes han sido utilizados en diferentes áreas, desde la elaboración de dulces y cosméticos, hasta la creación de medicamentos para tratar diferentes enfermedades.

Estos árboles, a menudo se encuentran cada vez más salvaje en los suelos arenosos en las llanuras centrales de Brasil y se cultivan en muchas partes de la selva amazónica. La vida de un árbol de merey es de aproximadamente unos 30 años y produce frutos desde el tercer año de vida<sup>41, 44</sup>

- **Tronco:** Posee un tronco corto, tortuoso y con ramificación dispersa, así como una copa amplia en edad productiva. Su corteza, de color gris a pardo claro, contiene una savia lechosa.
- **Hojas:** alternas, de pecíolo corto, de forma ovada u ovada-oblonga con base en cuña u obtusa y redondeada o ensanchada; algunas veces el ápice es muy obtuso, entero, coriáceo, pinatinervado con venas transparentes, de color verde oscuro o verde amarillento y brillante en el haz, verde brillante y opaco en el envés, liso en ambas superficies, de 7-20 cm. de largo y 4-12 cm. de

ancho. Los pecíolos son aplanados con la base un tanto dilatada y generalmente de color café y de 1-1,5 cm. de largo.

- **Flores:** se presentan en corimbos en un lado en las ramas de una terminal; son erectas, corimbiformes, anchas, fragantes, con flores bisexuales y masculinas presentándose intermezcladas; el panículo es de 15-85 cm. de largo. Los 5 sépalos son lanceolados en forma angosta, agudos, de color verde intenso y densamente pubescentes externamente, de color verde-amarillento por dentro y de 0,3-0,4 cm. de largo.
- **Pedúnculo o pseudo fruto:** Es la parte de la planta que se consume como fruta fresca. Se trata de un pedúnculo engrosado, con forma de pera, que mide de 4 a 8 cm. de largo, y posee una pulpa carnosa y jugosa. En su extremo se ubica el fruto verdadero con forma de nuez.
- **Fruto:** Son nueces profundamente reniformes, de color verde-grisáceo, de brillo tenue, de 2,5-3 cm. de largo y 2-2,5 cm. de ancho.<sup>46,47</sup>

**Composición química y propiedades farmacológicas.** La familia Anacardiaceae es conocida por sus fenoles y sus ácidos fenólicos que causan serias irritaciones en la piel: anacardol, ácido anacárdico y sus derivados; también es común en la familia la presencia de terpenos, politerpenos y taninos. Se ha reportado que el ácido anacárdico puede tener actividad antihelmíntica; igualmente se ha descrito la presencia de varias toxinas.

En la especie *A. occidentale* los principios responsables de las propiedades irritativas del aceite de la corteza del anacardo son primariamente el cardol y el ácido anacárdico. Las hojas han dado respuestas positivas a las pruebas que determinan la presencia de alcaloides.

En general se considera que los principios activos de esta especie son, por una parte, un flavonoide, la catechina, que es un depresor del sistema nervioso central, y por otra, los taninos que actúan como antiinflamatorios y analgésicos.

Las hojas contienen ácidos fenólicos; hasta un 3 % de aceite esencial; un 10 % de minerales; heterósidos derivados de la luteolina y apigenina; tanino y principio amargo. El aceite esencial, que es incoloro y de sabor picante, tiene mentol, mentona, acetato de mentilo, alfa-pineno, felandreno, cardineno, timol, carvacrol, alcohol amílico, terpineno, alcohol isoamílico, cineol, mentofurano, ácido isovalérico, isovalerianato de metilo y otros.

Se han realizado varias investigaciones experimentales con esta droga vegetal para probar algunos efectos; así se han reportado resultados sobre las propiedades hipoglucemiantes y antihipertensivas en ratas. El extracto exanoico de la cáscara de la nuez de *A. occidentale* fue efectivo en pruebas realizadas como moluscicida contra babosas (*Biomphalaria glabrata*). También se ha probado la actividad antiinflamatoria de la epicatechina aislada de *A. occidentale* en comparación con la fenilbutazona, con resultados positivos.

Algunos componentes del ácido anacárdico demostraron una moderada toxicidad. De *A. occidentale* se ha extraído un aceite del cual se ha separado la sal de sodio del ácido anacárdico; este aceite mata rápidamente las formas vegetativas de bacilos anaeróbicos, por ejemplo *Proteus*. El anacardato de sodio destruye *in vitro* los venenos de serpientes (*Crotalus* y *Bothrops atrox*), así como también las toxinas tetánica y diftérica.

Los resultados de las pruebas *in vitro* e *in vivo* en animales experimentales, validan algunos usos populares de esta planta. Se carece de información sobre estudios clínicos en humanos.<sup>48</sup>

Además, tiene un alto contenido de proteína y puede llegar a tener hasta cinco veces más el contenido de vitamina C que puede tener un cítrico. Además es muy perecedero, se deteriora en menos de 24 horas después de recolectado, lo atacan principalmente hongos y levaduras. Se ha determinado que se puede almacenar hasta por cinco semanas a 0-1,6 °C, y a una humedad relativa de 85 % a 90 %. El jugo es astringente y ácido pues tiene un alto contenido, 35 % de taninos y un 3% de una sustancia grasosa.<sup>49</sup>

#### Composición de la nuez

La nuez del anacardo constituye más o menos un tercio del peso del fruto y su análisis indica un contenido de 55-60 % de aceite, 15-20 % de proteínas y el 5 % de carbohidratos (almidón y azúcar).

El tejido interno de la concha que rodea la semilla contiene una savia muy aceitosa, sumamente cáustica, de color café oscuro y sabor picante que contiene un principio tóxico denominado "Cardol"

#### Composición nutricional de la fruta

- Vitamina A : 450 IU
- Tiamina (B<sub>1</sub>) : 0-0.02 miligramo
- Roboflavina (B<sub>2</sub>) : 0.02 miligramo
- Niacina (pp) : 0.13 miligramos

- Acido ascórbico (C): 372-450 miligramos.
- Calorías : 30-56
- Agua: 85-90.4 gr.
- Fibras: 0.04-0.5 gr.

Composición Nutricional: 100 gramos de parte comestible (pulpa de pseudo fruto) contienen:

COMPUESTO	CANTIDAD
Calorías	45
Agua	84.4 – 88.7 g
Carbohidratos	9.08 – 9.75 g
Grasas	0.05 – 0.50 g
Proteínas	0.101 – 0.162 g
Fibra	0.4 – 1.0 g
Cenizas	0.19 – 0.34 g
Calcio	0.9 – 5.4 mg
Fósforo	6.1 – 21.4 mg
Hierro	0.19 – 0.71 mg
Tiamina	0.023 – 0.03 mg
Riboflavina	0.13 – 0.4 mg
Niacina	0.13 – 0.539 mg
Ácido ascórbico	146.6 – 372 mg

Fuente: Fruits of warm climates.<sup>50</sup>

#### Composición semilla de Marañón.

COMPUESTO	CANTIDAD
Almendra	20-25
Cutícula	2-2.5
Cáscara o concha	18-23
Líquido de la cáscara	45-50

Fuente: Ficha técnica: industrialización del marañón <sup>48</sup>

#### Valor nutricional porcentual de la nuez y de los ácidos grasos del aceite de marañón.

COMPUESTO	CANTIDAD
<b>SEMILLA</b>	
Agua	5.0 g
Aceite	50.0 – 60.0 g
Proteínas	18.0 – 20 g
<b>ACEITE</b>	
Palmítico	11.7 g
Oleico	74.6 g
Linoléico	6.9 g

Fuente: Ficha técnica: industrialización del marañón <sup>48</sup>

#### Usos

- **Semilla:** En Sierra de las Minas, Guatemala, se aprovecha la nuez para consumo familiar, pero también se vende en los mercados para obtener algún ingreso económico. En las zonas donde se cultiva sirve como alimento, mientras que en otros sitios es un manjar delicado, consumido tostado o salado, usado en confites, turrone y chocolatinas, en frescos y helados. El aceite de la semilla se usa en México para condimentar ensaladas, como endurecedor del chocolate y en la fabricación de



margarinas. El líquido cáustico de la cubierta de la semilla es un aceite oscuro rico en fenoles como el cardol, el cardanol y los ácidos anacárdicos; por ello, ha sido estudiado como derivado fenólico alternativo de la industria petroquímica para su aplicación en la síntesis de polímeros para producir adhesivos, laminados, pinturas y plásticos <sup>47, 49</sup>

- **Manzana, como fruta:** El receptáculo (la manzana) que sostiene la nuez es también comestible, se consume fresca así como en jugos, dulces y conservas. Es una buena fuente de vitamina C. Los tallos jóvenes y hojas también se pueden comer frescos o cocinados. En la parte oriental de El Salvador es tradicional el vino hecho del jugo fermentado de la manzana y puede destilarse para producir fuertes bebidas alcohólicas. La manzana produce una goma de color ámbar, parcialmente soluble en agua, que se hincha en una masa gelatinosa. Esta goma se usa como la cola arábica, para unir paneles de madera, tableros de chapa y encuadernar libros, con la ventaja de que tiene propiedades insecticidas. El jugo de la manzana produce manchas indelebles en la ropa.
- **Madera:** La madera se puede usar directamente para postes (Panamá). Aunque no se cultive por la madera, se puede usar para propósitos de construcción ligera (El Salvador). Sin embargo, no se cortan a no ser que los árboles sean viejos o ya no sean económicamente rentables para producir semillas. Como madera de aserrío, su densidad es media (0.50). Se utiliza en elementos de carretas, yugos, barcas de pesca, muebles, falsos techos y decoración interior. Las cajas hechas de esta madera no son muy resistentes, pero si lo suficiente como para competir con cajas de embalaje convencionales. En México se usa para horcones, yugos y trapiches. La

pulpa de la madera se usa para fabricar cajas de tablero de fibras de alta densidad. Como combustible (El Salvador y Nicaragua), así como el residuo de la cáscara, que se quema en plantas de extracción de aceite.

- **Corteza:** La corteza contiene una resina espesa y marrón, que se convierte en negra al exponerse al aire. Se usa como tinta indeleble para marcar tejidos y lonas de algodón. El “cashew gum” se usó como barniz para muebles finos el siglo pasado en Inglaterra, como preservante para redes de pesca y fundente para soldar metales. Contiene un 3-5% de taninos y se usa en la industria de curtir pieles. Esta resina tiene también propiedades insecticidas.
- **Cáscara de la nuez:** De la cáscara de la nuez se extrae un aceite irritante y cáustico llamado cardol que tiene aplicaciones en la industria de plásticos, insecticidas, tintas para imprenta y estampados de tejidos de algodón, productos farmacéuticos como anti caries, gomas y barnices y se usa como preservante para estructuras de madera y redes de pesca. Tiene también buena demanda para pinturas, resinas sintéticas, productos laminados y recubrimientos de frenos. Los aceites de la cáscara de la nuez (“pepa” en El Salvador) producen quemaduras en la boca y labios, causando dermatitis, inflamación y ampollas. Se recomienda alejarse del humo al tostarse las pepas, pues causa irritación y ampollas en la cara y los ojos.

#### **Medicinal:**

Debilidad, impotencia, insomnio, neuralgias, vómito, lesiones dérmicas secundarias, diabetes, inflamaciones ováricas, hemorroides, diarrea.

En Colombia se atribuyen a la corteza propiedades antidiabéticas. En Manaus (Brasil) se emplea la decocción para gargarismos en el caso de aftas o inflamaciones faringo-amigdalinas; el fruto es considerado vermífugo; también se cree que es útil contra las lesiones cutáneas de la lepra, y otros trastornos dermatológicos como ulceraciones y verrugas. En la Amazonia brasileña, la especie *Anacardium giganteum*, conocida con los mismos nombres vulgares de *A. occidentale*, tiene similares indicaciones terapéuticas, siendo especialmente recomendada la decocción de la corteza en las alergias y en las infecciones genitales femeninas

En Colombia se refiere que las semillas son nutritivas y que tienen propiedades afrodisíacas, que exaltan las facultades intelectuales y la memoria; de esta forma son aplicadas como un "tónico excitante útil en el tratamiento de la impotencia y la debilidad". Los frutos se aprovechan como laxativos, expectorantes, anticatarrales y antigripales, pero fundamentalmente como expectorantes y béquicos en forma de jarabe. El jugo del pedúnculo verde se aplica en las verrugas; la corteza es reputada como antidiabética, para lo que se aconseja mantenerla en maceración en agua fría y tomar 3 o 4 vasos diarios de la poción resultante. Hay referencias del uso como antipalúdico y se ha escrito que "comer la pulpa del marañón maduro es de gran alivio en el paludismo"

En el Perú el aceite de la semilla se aplica como antihelmíntico, el cocimiento de la cáscara del fruto se usa en vejigatorios y la corteza del tronco como astringente

Se dice que el jugo de la manzana es efectivo para el tratamiento de la sífilis. La infusión de raíz es un excelente purgante. Para el dolor de estómago se usa el

licor de anacardo en pequeñas dosis y el vino de la fruta como antidiarréico. El aceite de la cáscara, macerado en alcohol se aplica para curar heridas en la planta y dedos de los pies. La manzana es antiescorbútica dado su alto contenido en vitamina C y es diurética, y se usa para el cólera y problemas de riñón. La infusión del cocimiento de las hojas y la corteza se usa en medicina casera en México como remedio contra la lepra, diabetes, diarrea, tos ferina e hinchazones de origen sifilítico. También es usada en Rivas (Nicaragua) en cocimiento de la corteza para la diarrea y contrarrestar indigestiones o malestar estomacal.<sup>51, 52</sup>

### **2.3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

*Candida albicans* y *Staphylococcus aureus* son microorganismos de mucha importancia en la salud bucal por su elevada capacidad de adhesión a la mucosa bucal y ambas se asocian a lesiones de pacientes con queilitis angular, entidad clínica donde *C. albicans* juega un importante papel etiológico.<sup>5</sup>

Con el advenimiento del uso de los antibióticos, el interés se enfocó en el tratamiento de las enfermedades. No fue sino hasta la aparición de diferentes cepas de hongos y bacterias resistentes a antibióticos y que estos a la su vez, producían resistencia además de causar una importante toxicidad, que se empezó una búsqueda continua de nuevos fármacos más potentes y, sobre todo, más seguros que los existentes.<sup>9, 46</sup>

Dentro de esta búsqueda, se halla la investigación en plantas, la cual se realiza en muchas latitudes con resultados muy promisorios pues se han encontrado, por ejemplo, efectos antimicóticos y antibacterianos en muchos extractos vegetales utilizando diversos solventes o en los aceites esenciales.<sup>6</sup>

El avance de la Fitoterapia como disciplina médica es cada vez mayor, esto se evidencia en que las plantas medicinales representan casi el 25 % del total de las prescripciones medicas en países industrializados; en los países en desarrollo la participación de las plantas medicinales en el arsenal terapéutico alcanza el 80 %.

39

Una de estas plantas es el *Anacardium occidentale* que, según estudios, presenta acción antimicrobiana sobre afecciones bucales.<sup>5</sup>

## 2.4. JUSTIFICACIÓN

Siendo las infecciones por *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus* patologías de elevada frecuencia e importancia clínica y, a la vez, la medicina tradicional un saber médico bastante extendido en nuestro país, que tiene sus propios conceptos de salud, enfermedad, diagnóstico, prevención y tratamiento; que posee sus propios agentes de salud y que aplica notables conocimientos sobre las propiedades terapéuticas de las plantas medicinales, la búsqueda de recursos alternativos ya es una realidad. Se justifica, por tanto, la necesidad de estudiar la acción de fitoterápicos sobre especies de *Candida* y *Staphylococcus*, siendo el *Anacardium occidentale* una planta ampliamente encontrada en la región noreste de nuestro país y utilizada popularmente, que requiere estudios que evidencien estas propiedades.

Es por todo lo anteriormente expuesto, que este trabajo busca encontrar acción antifúngica contra la *Candida albicans* y antibacteriana contra el *Staphylococcus aureus* con el fin de hallar una alternativa de apoyo para el tratamiento contra estos dos agentes de enfermedades por su aplicación de uso económico y natural.

## 2.5. OBJETIVOS

### 2.5.1. Objetivo General

Establecer la acción antimicrobiana del aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium Occidentale* sobre *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*

### 2.5.2. Objetivo Específico

- Determinar la acción antifúngica y antibacteriana del aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale* a diferentes concentraciones: 25%, 50% y 100% sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y de procedencia clínica así como de *Staphylococcus aureus*, respectivamente.
- Comparar la acción antifúngica y antibacteriana del aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale* a diferentes concentraciones: 25%, 50% y 100% sobre las cepas de *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*, respectivamente.

## 2.6. HIPÓTESIS

### Hipótesis general

- El aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale*, a diferentes concentraciones (25%, 50% y 100%), tiene acción antimicrobiana, *in vitro*, frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y de procedencia clínica, y de *Staphylococcus aureus*.

### Hipótesis particulares

- El aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale*, a diferentes concentraciones (25%, 50% y 100%), tiene acción antifúngica, *in vitro*, frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 y de procedencia clínica.

- El aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale*, a diferentes concentraciones (25%, 50% y 100%), tiene acción antimicrobiana, *in vitro*, frente a cepa de *Staphylococcus aureus*.
- A mayor concentración, el aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale*, presenta mayor intensidad de acción antifúngica sobre cepas de *Candida Albicans* ATCC 10231 y de procedencia clínica
- A mayor concentración, el aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale*, presenta mayor intensidad de acción antibacteriana sobre cepa de *Staphylococcus aureus*.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. TIPO DE ESTUDIO**

El presente estudio es de tipo experimental “*in vitro*” con grupos controles, transversal, en un solo momento.

#### **3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA**

Las cepas utilizadas para el presente estudio fueron: *Candida albicans* procedente de American Type Culture Collection ATCC 10231, cepa de *Candida albicans* aislada de un paciente portador de prótesis total de la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, cepa de *Candida albicans* de un paciente portador de VIH, cepa de *Staphylococcus aureus*.

El aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale* en diferentes concentraciones.

#### **3.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES**

##### **3.3.1. Variable independiente:**

Aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale* en diferentes concentraciones.

Microorganismos

##### **3.3.2. Variable dependiente:**

Acción antifúngica.

Acción antimicrobiana.



## OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

Variable	Concepto	Dimensión	Indicador	Escala	valor
Aceite	Sustancia extraído de la cáscara de la nuez del <i>Anacardium occidentale</i>	Concentración	Aceite en diferentes concentraciones	Razón	25 % 50 % 100 %
Microorganismos	Ser vivo que solo puede visualizarse al microscopio, que presenta una organización biológica elemental.	Hongo	Cultivos de:  - <i>C. albicans</i> ATCC  - <i>C. albicans</i> cepa de aislamiento clínico		
		Bacteria	- <i>S. aureus</i>		
Acción antifúngica	Eliminación o detención del crecimiento de los hongos causado por una sustancia.	-Presencia	Halo de inhibición.	Nominal	Categoría SI No
		-Intensidad	Tamaño de halo de inhibición dado en mm. de diámetro.	Ordinal	Números en mm.
Acción antimicrobiana	Eliminación o detención del crecimiento de las bacterias causado por una sustancia	-Presencia	Halo de inhibición.	Nominal	Categoría Si No
		-Intensidad	Tamaño de halo de inhibición dado en mm. de diámetro.	Ordinal	Números en mm.

### **3.4. MATERIALES Y MÉTODO**

#### **3.4.1. Procedimientos y técnica**

##### **3.4.1.1. Obtención del aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale***

Se recolectaron nueces de *Anacardium occidentale* en la provincia de Iquitos, en el departamento de Loreto, ubicada a 104 msnm, los cuales fueron conservados a temperatura de ambiente sin desecar, exponer al sol o lavarlos hasta el momento de la extracción del aceite. La identificación de la especie se realizó en el Museo de Historia Natural Javier Prado de la UNMSM.

Las nueces fueron lavadas y secadas. A continuación se cortaron por la mitad para de esta forma poder extraer, por presión, solamente la cáscara y ayudó a la rotura de las paredes celulares a presiones menos altas. Las cáscaras se convirtieron en una pasta al ser molidas pasándolas a través de un molino, consiguiéndose así, la rotura de la pared celular, y por ende, la exposición del aceite localizado en el interior de las células. Posteriormente se colocó esta pasta en un tamiz esterilizado eliminando las impurezas y filtrando así el aceite en un recipiente estéril.

##### **3.4.1.2. Toma de muestra, crecimiento y reconstitución de cepas de *Candida albicans*:**

Las muestras para el aislamiento de cepas de *Candida albicans*, fueron obtenidas a partir de paciente portador de prótesis total y de paciente portador de VIH, mediante hisopos estériles y transportadas en suero

fisiológico, para después ser cultivada en agar Sabouraud. Se les realizó la prueba API para su diferenciación de otras especies de hongos. La cepa de *Candida albicans* ATCC fue reactivada en caldo dextrosa Sabouraud. Los cultivos de *Candida albicans* se incubaron a 37 °C en un lapso de 24 a 48 horas.

#### **3.4.1.3. Prueba de sensibilidad antifúngica:**

**Para *Candida albicans*.** Bajo condiciones estériles se tomó una asada de colonias de cada cepa y se suspendió en 5 ml. de solución salina fisiológica estéril hasta llegar a una concentración equivalente al grado de turbidez de 2 según la escala de MacFarland (donde el número de microorganismos es de  $0.6 \times 10^9$ /ml.).

Para la preparación de las placas se utilizó el medio agar dextrosa Sabouraud; a cada placa se le agregó 100 µl. de suspensión de los inóculos con pipeta automática y se esparció por toda la placa Petri, tratando de no dejar ninguna parte de la superficie libre del inóculo. Se rotuló con el nombre del microorganismo, con los porcentajes de las diluciones y con el nombre de los controles positivo y negativo distribuidos equitativamente.

Se procedió a realizar la prueba de difusión por discos en placa, donde se coloca discos de papel estéril embebidos en cada una de las soluciones. Para el aceite de la cáscara de la nuez, se utilizó como solvente el hidróxido de sodio 0,1 N, logrando diluciones al 25 %, 50 % y 100 %. Como control positivo se usó Nistatina y como control negativo, hidróxido de sodio 0,1 N.

Se llevó a incubación de 37 °C por 24 horas. Las pruebas se realizaron por quintuplicado, tanto para *C. albicans* ATCC así como para *C. albicans* de pacientes portadores de VIH y de prótesis total.

**Para *Staphylococcus aureus*.** Bajo condiciones estériles se tomó una asada de colonias de del cultivo de la cepa y se suspendió en 5 ml. de solución salina fisiológica estéril hasta llegar a una concentración equivalente al grado de turbidez de 0.5 según la escala de MacFarland.

Para la preparación de las placas se utilizó el medio Agar BHI previamente reconstituido, esterilizados y enfriados. Posteriormente se le agregó 100 µl. de suspensión de los inóculos con pipeta automática y se esparció por toda la placa Petri, tratando de no dejar ninguna parte de la superficie que no contuviera el inóculo. Se rotuló con el nombre del microorganismo, con los porcentajes de las diluciones y con el nombre de los controles positivo y negativo distribuidos equitativamente.

Se procedió a colocar discos de papel estéril embebidos en cada una de las soluciones. Para el aceite de la cáscara de la nuez, se utilizó como solvente el hidróxido de sodio 0,1 N, logrando diluciones al 25 %, 50 % y 100 %. Como control positivo se usó Clorhexidina 2 % y como control negativo, hidróxido de sodio 0,1 N.

Se llevó a incubación de 37° C por 24 horas. Las pruebas se realizaron por quintuplicado.

### **3.4.2. Recolección de datos**

Luego de transcurrido el tiempo de incubación se procedió a realizar las lecturas correspondientes con la observación de las zonas claras de inhibición del crecimiento, mediante el registro de los diámetros en mm. de estas zonas.

Para interpretar los resultados del presente estudio de acuerdo a los objetivos e hipótesis, se comparó los resultados obtenidos entre los grupos que presentaban aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale* y los que presentaban Nistatina y Clorhexidina 2 %.

#### IV. RESULTADOS

**Cuadro 1. Promedios de halos de inhibición en mm. de diámetro del aceite de *A. occidentale* sobre cepas de *Candida albicans*.**

Procedencia de cepas	Concentración			Nistatina	NaOH
	25 %	50 %	100 %		
ATCC	0	0	0	15-14	0
Paciente VIH	0	0	0	15-13	0
Paciente con Prótesis dental	0	0	0	14-14	0

**Cuadro 2. Promedios de halos de inhibición en mm. de diámetro del aceite de *A. occidentale* sobre cepa de *S. aureus***

Procedencia de cepas	Concentración			Clorhexidina	NaOH
	25 %	50 %	100 %		
Clínica	13-13	16-16	27-26	11-11	0

## V. DISCUSIÓN

Los resultados de las pruebas de difusión en agar demuestran que la planta investigada no posee actividad antifúngica contra *Candida albicans* ATCC ni contra *Candida albicans* cepas clínicas de pacientes portador de VIH y de prótesis bucal <sup>5, 12</sup> a diferencia de Lima <sup>1</sup> quien halló una débil inhibición en el crecimiento de la levadura y de Fenner <sup>9</sup> quien toma a *Anacardium occidentale* como una de las 10 especies nativas de Brasil más utilizadas en el tratamiento de signos y síntomas de infecciones fúngicas. Esta diferencia de resultados, podría deberse al método de extracción del aceite, ya que Lima utilizó el método de extracción de aceite por medio de químicos como el éter etílico con adiciones de sulfato de sodio anhidro; mientras que en el presente trabajo se hizo mediante presión. Dichas extracciones se realizaron en dos oportunidades diferentes de la ejecución del trabajo: la primera se hizo con un mes de anticipación y la otra, en el momento mismo de la siembra, con el propósito de evaluar si el tiempo del almacenaje influía en la actividad antimicrobiana, lo que resultó negativo, ya que ninguna de las dos muestras obtuvo un resultado positivo.

En el caso de *Staphylococcus aureus*, si se encontró acción antimicrobiana <sup>1</sup> muy por encima de la que presentó la clorhexidina frente a este microorganismos, presentando un halo mayor de 30-27 mm y en el caso de la clorhexidina un halo 12-12, a diferencia de Brasil <sup>12</sup> quien no halló efecto antimicrobiano., lo cual podría deberse a que en el presente trabajo, se usó el aceite “virgen” (aceite sin alteraciones) y solo se le agregó NaOH 0.1 N para realizar las diluciones, mientras que Brasil, empleó el extracto alcohólico de la cáscara de la nuez del anacardo, en una concentración del 60 %, lo cuál podría haber influenciado en la actividad antimicrobiana de éste.

## VI. CONCLUSIONES

- El aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale* no mostró actividad antifúngica significativa en la prueba de difusión en agar contra *Candida albicans* ATCC 10231 ni en *Candida albicans* cepa clínica.
- El aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale* a diferentes concentraciones tiene actividad antimicrobiana significativa en la prueba de difusión en agar contra *Streptococcus aureus* cepa clínica, con halos de inhibición mayor a 11mm.
- El tiempo y la temperatura de almacenamiento del aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale* no influye en su actividad antifúngica ni antimicrobiana.



## VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios con *Anacardium occidentale*, tomando muestras de diferentes regiones del Perú.
- Continuar con la investigación sobre *Candida albicans*, otros hongos y bacterias, utilizando diversos métodos de extracción.
- Hacer estudios sobre un método más factible para la extracción del aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale*.
- Se recomienda probar otros solventes para el aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale* distinto al hidróxido de sodio (0,1 N).
- Realizar bioensayos en animales de experimentación para determinar la toxicidad de la planta.
- Realizar trabajos similares, principalmente en el campo etnobotánico en las diferentes regiones de nuestro país, en la búsqueda de nuevos compuestos antifúngicos y antimicrobianos en general.

## RESUMEN

A escala mundial hay interés en la búsqueda de nuevos medicamentos antibacterianos para tratamientos de enfermedades infecciosas.

Ante la comprobada resistencia y recurrencia de *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* y otras bacterias, se busca encontrar nuevos productos para el tratamiento contra estos microorganismos. El objetivo de este trabajo fue hallar la acción antifúngica del aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale* sobre *Candida albicans* y la actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* por lo que se trabajó con cepas de la American Type Culture Collection y con cepas de pacientes portadores de VIH y de prótesis bucal. Se usó como control positivo a la Nistatina para *C. albicans* y Clorhexidina 2 % para *S. aureus*. Cada prueba se realizó por quintuplicado. Los resultados mostraron que el aceite del *Anacardium occidentale* no tiene actividad antifúngica, pero sí demostró tener gran actividad antibacteriana contra *S. aureus*, mucho mayor que la mostrada por la clorhexidina.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Lima, C., Pastore, G. **Estudo da atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos do óleo da casca da castanha de caju (CNSL) dos cones de cajueiro-anão-precoce CCP-76 e CCP-79 em cinco estágios de maturação sobre microorganismos da cavidade bucal.** Ciênc. Tecnol. Aliment. 2000; 3:1-6.
2. Mier, E., Rivas, C. Actividad antimicrobiana de los extractos de *Eysenhardtia polystachya texana*. [en línea]. Facultad de Ciencias Biológicas y Facultad de Medicina de la UNAL.2000.
3. Cordero, V., Llanuch, M., Camacho, M., Rodríguez, J.,Gala, L. **Estudio *in vitro* de la actividad anticandidiásica de la Güira Cimarrón (*Crisanta L. cujate*).** CIGET Pinar del Río 2003; 1:1-5
4. Huamaní, L., Ruiz, J. (2005). Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú. Tesis para optar el título Profesional de Químico Farmacéutico- Lima: UNMSM.
5. Ferreira, C., Viera, M. **Atividade antifúngica *in vitro* da casca do *Anacardium occidentale* Linn. sobre levaduras do género *Candida*.** Arquivos em odontologia, Belo Horizonte 2005; 3: 193-212.
6. Alvarez, M., Isaza, G. **Actividad antimicótica de *Phenax rugosus* (Lam) pers y *Baccharis trinervis* (sw) wedd.** Biosalud 2005; 14: 38-45.
7. Estrada, H., Gamboa, M., Chaves, C., Arias, M. **Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra el *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomona aeruginosa*, *Escherichia coli*,**

- Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Aspergillus niger*. **Evaluación de su carga microbiológica.** Archivos Latinoamericanos de Nutrición 2005; 2: 167-171
8. Baena, T., Moreno, V., Franco, F. **Colonización por *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans* en pacientes portadores de prótesis dentales.** Medicina Oral, patología Oral y Cirugía bucal 2005; 10: 27-39
9. Fenner, R., Hemann, B., Auler, L., Kuze, S. **Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica.** Rev. Bras. Cienc. Farm. 2006; 42 (03): 369-394.
10. Rojas, J., Ochoa, V., Ocampo, S., Muñoz, J. **Detección de la actividad antimicrobiana de 10 plantas medicinales utilizados en la medicina folclórica de Colombia: Una posible alternativa en el tratamiento de las infecciones nosocomiales.** BMC Complementary and Alternative Medicine 2006; 6: 2-2
11. Cano, C. (2007). Actividad antimicótica *in vitro* y elucidación estructural del aceite de las hojas de *Minthostachys mollis* “muña”. Tesis para optar el grado de Magister en Recursos Vegetales y terapéuticos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica-Lima: UNMSM.
12. Brasil, E., Abib, P., Kozlowski, V., Schwartz, J. **Eficácia antimicrobiana do produtos naturais frente a microrganismos causadores da endocardite.** Ci. Biol. Saúde, Ponta Grossa 2007; 13: 67-72.
13. Cano, N., Dorantes, K. Comparación de propóleo y la nistatina como tratamiento de la *Candida albicans* [en línea]. Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de México.

14. Ccahuana- Vasquez, R., Solío, S. **Antimicrobial activity of *Uncaria tomentosa* against oral human pathogens.** Braz Oral Res. 2007; 21(1):46-50.
15. Botelho, M., Nogueira, N. **Antimicrobial activity of the essential oil from *Limpia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens.** Braz.J Biol Res. 2007; 3: 349-356.
16. Espinoza, J., Centurión, D., López, B., Vera, J., Cázares, J. Actividad antibacteriana de ciruela *Spondias puperea* y guayaba agria *Psidium friedrichsthalianum*. Semana de Divulgación y video científico. Mexico 2008.
17. Vivot, E., Cruanes, M. **Actividades antibacteriana y antiviral de extractos vegetales de algunas especies de la flora de Entre Ríos.** Ciencia, docencia y tecnología (Entre Ríos) 2008; 37: 177-189.
18. Daud A.,Habib, N., Sánchez, A. **Actividad antimicrobiana de extractos alcohólicos de hojas y corteza de *Polylepis australis* Bitter (queñoa).** Revista Cubana Plantas Medicinales 2008; 13(3): 195-217.
19. Rajesh V., **Elementary Chemical Profiling and Antifungal Propeties of Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nuts.** Botany Research International 2009. 2(4): 253-257.
20. Pino, N., Stashenko, E. **Validación antibiótica de plantas medicinales del noreste de Colombia contra *Staphylococcus aureus*.** Boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas 2009; 8(2): 145-150
21. Liébana, J. Microbiología oral. Barcelona: Mc Graw-Hill-Interamericana, 2002.
22. Montes, B., Restrepo, A., McEwen, J. **Nuevos aspectos sobre la clasificación de los hongos y su posible aplicación médica.** Rev. del Inst. Nac. de Salud de Colombia. 2003, 23(02); 213-224.

23. Rodriguez, J., Miranda, J., Morejón, H., Santana, J. **Candidiasis de la mucosa bucal. Revisión bibliográfica.** Rev. Cubana Estomatol 2002; 39(2): 187-233.
24. Carrillo, L. Microbiología agrícola. (en línea) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Salta-(ARGENTINA).
25. Aréstegui, B. **Los hongos patógenos para el ser humano.** Rev. Iberoamericana Micología 2002; 19: 5-9.
26. Gonzales, A. **Infecciones micóticas oportunistas en pacientes con VIH/SIDA.** 2006; 4: 279-288.
27. Aguirre, J. **Candidiasis orales.** Revista Iberoamericana Micología 2002; 19:17-21.
28. Freeman, B. Microbiología de Burrows. 22<sup>a</sup> ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 1989
29. Pardi, G. **Algunas consideraciones sobre *Candida albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal.** Acta Odontológica Venezolana 2002; 1
30. Negroni, M. Microbiología estomatológica. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1999.
31. Myrvick, Q., Weissen, R. Bacteriología y micología médica. Barcelona: Interamericana Mc Graw-Hill. 1991
32. Jenkinson, H, Lala, H. **Coaggregation of streptococcus sanguis and other Streptococci with *Candida albicans*.** Infection and immunity 1990; 5: 1492-1436.
33. Panizo, M., Reviákina, V. **Adhesinas y receptores involucrados en el fenómeno de adherencia de *Candida albicans* a las células epiteliales.** Rev. Soc. Ven. Microbiol.2001; 21 (1): 5-11

34. Sullivan, J., Jenkinson, H. **Adhesion of *Candida albicans* to oral streptococci is promoted by selective adsorption of salivary proteins to the streptococcal cell surface.** Microbiology 2000; 146: 41-48.
35. Hoffman M., Haidoris, C. **Analysis of *Candida albicans* adhesion to salivary mucins.** Infection and Immunity 1993; 5: 1940-1949.
36. Paillaud, E. Merlier, I. **oral candidiasis and nutritional deficiencies in elderly hospitalized patients.** British Journal of Nutrition 2004; 92: 861-867.
37. Lazarde, L. **Candidiasis eritematosa de la cavidad bucal. Reporte de un caso y revisión de la literatura.** Acta odontológica Venezolana 2003; 41(3): 86-90.
38. Cardozo de Pardi, E. **Mecanismos de defensa del hospedero en Estomatitis sub-protésica inducida por *Candida*.** Acta Odontológica Venezolana 2002; 40 (30): 297-300
39. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. España, Convenio Andrés Bello, 2000.
40. Katzung, B. Farmacología básica y clínica. México: El Manual Moderno. 2002. 8ª ed.
41. Project Inform. *Candidiasis oral y el enfermedad del VIH (on-line)* (E.E.U.U.) <[www.thebody.com](http://www.thebody.com)>. 2005
42. Izquierdo, G., Chirinos, J., Alfaro, C., Soriano, C. **Resistencia antibiótica de bacterias causantes de infecciones en unidades intensivas del Perú: Revisión sistemática.** Rev. Per. Soc. Med. Intern. 2002, 15 (3): 18-26.
43. Tratado de Cooperación Amazónica. *Plantas Medicinales Amazónicas: Realidad y Perspectivas* (on-line). Secretaría Pro Tempore Lima (PERÚ):
44. Cabrera, I. Las plantas y sus usos en las islas de Providencia y Santa Catalina. Colombia: Programa Editorial Universidad del Valle, 2005:22-42

45. Cajueiro. Tropical Plant data base. Raintree nutrition. (Estados Unidos) (en línea).
46. *Anacardium occidentale* Anales de Centroamérica 351-358 (en línea)(El Salvador).
47. Marañón (*Anacardium occidentale*). Perú Ecológico. (en línea) (Perú).
48. Murillo, L. Ficha técnica: industrialización del marañón (en línea). Dirección de Mercadeo y agroindustria. Área de Desarrollo de Productividad.
49. *Anacardium occidentale*. Species Plantarum 1: 17-20.(en línea).(Perú)
50. Vanaclocha, B. Fitoterapia. Vademecum de prescripción. Barcelona: Masson 4<sup>a</sup> edi. 2003.
51. Morton, J. Fruits of warm climates. Miami: Purdue University, 1987.
52. Vit, P. *Anacardium occidentale* L. **Ficha botánica de interés apícola en Venezuela, N° 6 Merey.** Rev. de la Fac. de Farmacia 2003; 45: 77-79.



# **ANEXOS**

**Tabla N°1: Actividad antifúngica del *Anacardium occidentale* sobre *Candida albicans* ATCC**

<b>N° de placa</b>	<b>Concentración del aceite y controles</b>	<b>Longitud de halo (mm.)</b>
<b>1</b>	Aceite de anacardo 25%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo 50%	<b>0-0</b>
	Aceite d anacardo 100%	<b>0-0</b>
	Nistatina	<b>15-14</b>
	Hidroxido de sodio 0.1 N	<b>0-0</b>
<b>2</b>	Aceite de anacardo 25%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo50%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo100%	<b>0-0</b>
	Nistatina	<b>14-13</b>
	Hidróxido de sodio	<b>0-0</b>
<b>3</b>	Aceite de anacardo 25%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo 50%	<b>0-0</b>
	Aceite d anacardo 100%	<b>0-0</b>
	Nistatina	<b>15-14</b>
	Hidroxido de sodio 0.1 N	<b>0-0</b>
<b>4</b>	Aceite de anacardo 25%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo50%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo100%	<b>0-0</b>
	Nistatina	<b>14-12</b>

<b>5</b>	Hidróxido de sodio	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo 25%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo 50%	<b>0-0</b>
	Aceite d anacardo 100%	<b>0-0</b>
	Nistatina	<b>15-13</b>
	Hidroxido de sodio 0.1 N	<b>0-0</b>

**Tabla N°2: Actividad antifúngica del *Anacardium occidentale* sobre *Candida albicans* (paciente portador de VIH)**

<b>N° de placa</b>	<b>Concentración del aceite y controles</b>	<b>Longitud de halo (mm.)</b>
<b>1</b>	Aceite de anacardo 25%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo 50%	<b>0-0</b>
	Aceite d anacardo 100%	<b>0-0</b>
	Nistatina	<b>15-13</b>
	Hidroxido de sodio 0.1 N	<b>0-0</b>
<b>2</b>	Aceite de anacardo 25%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo50%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo100%	<b>0-0</b>
	Nistatina	<b>14-12</b>
	Hidróxido de sodio	<b>0-0</b>
<b>3</b>	Aceite de anacardo 25%	<b>0-0</b>

<b>4</b>	Aceite de anacardo 50%	<b>0-0</b>
	Aceite d anacardo 100%	<b>0-0</b>
	Nistatina	<b>15-12</b>
	Hidroxido de sodio 0.1 N	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo 25%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo50%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo100%	<b>0-0</b>
	Nistatina	<b>13-11</b>
<b>5</b>	Hidróxido de sodio	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo 25%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo 50%	<b>0-0</b>
	Aceite d anacardo 100%	<b>0-0</b>
	Nistatina	<b>15-12</b>
	Hidroxido de sodio 0.1 N	<b>0-0</b>

**Tabla N°3: Actividad antifúngica del *Anacardium occidentale* sobre *Candida albicans* (paciente portador de prótesis bucal)**

<b>N° de placa</b>	<b>Concentración del aceite y controles</b>	<b>Longitud de halo (mm.)</b>
<b>1</b>	Aceite de anacardo 25%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo 50%	<b>0-0</b>
	Aceite d anacardo 100%	<b>0-0</b>
	Nistatina	<b>14-12</b>

	Hidroxido de sodio 0.1 N	<b>0-0</b>
<b>2</b>	Aceite de anacardo 25%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo50%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo100%	<b>0-0</b>
	Nistatina	<b>14-12</b>
	Hidróxido de sodio	<b>0-0</b>
<b>3</b>	Aceite de anacardo 25%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo 50%	<b>0-0</b>
	Aceite d anacardo 100%	<b>0-0</b>
	Nistatina	<b>14-14</b>
	Hidroxido de sodio 0.1 N	<b>0-0</b>
<b>4</b>	Aceite de anacardo 25%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo50%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo100%	<b>0-0</b>
	Nistatina	<b>13-11</b>
	Hidróxido de sodio	<b>0-0</b>
<b>5</b>	Aceite de anacardo 25%	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo 50%	<b>0-0</b>
	Aceite d anacardo 100%	<b>0-0</b>
	Nistatina	<b>13-12</b>
	Hidroxido de sodio 0.1	<b>0-0</b>

**Tabla N°4: Actividad antimicrobiana del *Anacardium occidentale* sobre *Staphylococcus aureus*.**

<b>N° de placa</b>	<b>Concentración del aceite y controles</b>	<b>Longitud de halo (mm.)</b>
<b>1</b>	Aceite de anacardo 25%	<b>15-15</b>
	Aceite de anacardo 50%	<b>18-17</b>
	Aceite d anacardo 100%	<b>30-27</b>
	Clorhexidina 2%	<b>11-11</b>
	Hidroxido de sodio 0.1 N	<b>0-0</b>
<b>2</b>	Aceite de anacardo 25%	<b>12-12</b>
	Aceite de anacardo50%	<b>17-16</b>
	Aceite de anacardo100%	<b>30-25</b>
	Clorhexidina 2%	<b>10-12</b>
	Hidróxido de sodio	<b>0-0</b>
<b>3</b>	Aceite de anacardo 25%	<b>12-12</b>
	Aceite de anacardo 50%	<b>16-16</b>
	Aceite d anacardo 100%	<b>28-28</b>
	Clorhexidina 2%	<b>10-10</b>
	Hidroxido de sodio 0.1 N	<b>0-0</b>
<b>4</b>	Aceite de anacardo 25%	<b>12-12</b>
	Aceite de anacardo50%	<b>16-16</b>
	Aceite de anacardo100%	<b>24-24</b>
	Clorhexidina 2%	<b>11-11</b>

<b>5</b>	Hidróxido de sodio	<b>0-0</b>
	Aceite de anacardo 25%	<b>13-13</b>
	Aceite de anacardo 50%	<b>16-16</b>
	Aceite d anacardo 100%	<b>24-24</b>
	Clorhexidina 2%	<b>12-12</b>
	Hidroxido de sodio 0.1	<b>0-0</b>

**Figura 01:** Nueces recolectadas de *Anacardium occidentale*.



**Figura 02:** Corte transversal de la nuez donde se observa el aceite presente en el interior de la cáscara.





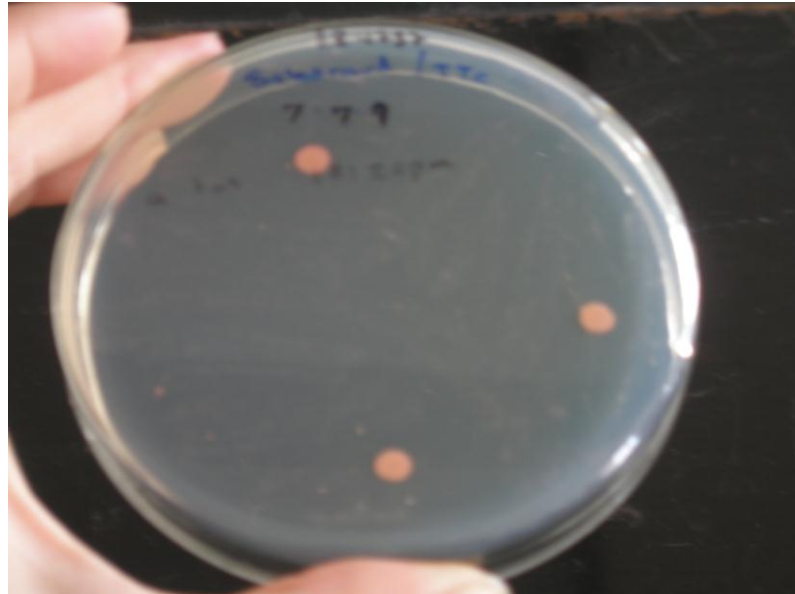
**Figura 03:** Toma de muestra de paciente con candidiasis portador de VIH.



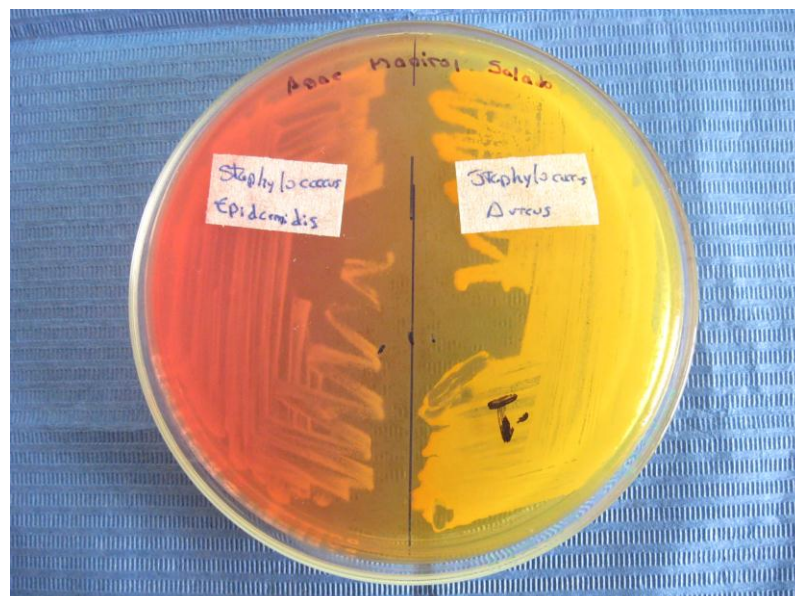
**Figura 04:** Siembra de la muestra en agar Sabouraud



**Figura 05:** Cepas de *Candida Albicans*, tomada de paciente portador de VIH.



**Figura 06:** A la derecha de la placa se observan cepas de muestra patológica de *Staphylococcus aureus*.



**Figura07:** Agar Sabouraud con colonias de *Candida albicans*, donde se observa respuesta negativa alrededor de discos de papel embebidos en aceite de *Anacardium occidentale*.



**Figura08:** Agar BHI con colonias de *Staphylococcus aureus*, donde se observa respuesta positiva alrededor de discos de papel embebidos en aceite de *Anacardium occidentale*.

